

doi: 10.12452/j.fxcsxb.26030302

固相萃取/高效液相色谱-串联质谱检测乳制品中23种全氟与多氟烷基物质

胡嘉豪^{1,2,4}, 黄颖³, 郝梦洁^{1,4}, 李孝通^{1,4}, 史亚利^{1,4*}, 蔡亚岐^{1,2,4}

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与环境毒理全国重点实验室, 北京 100085; 2. 中国科学院大学, 中丹学院, 北京 100049; 3. 福建省固体废物及化学品环境管理技术中心, 福建 福州 350003; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 该研究建立了一种固相萃取/高效液相色谱-串联质谱(SPE/HPLC-MS/MS)方法, 用于同时测定乳制品中的多种全氟和多氟烷基物质(PFAS)。牛奶、酸奶和奶酪样品在提取前均进行冷冻干燥处理。采用有机溶剂进行3次涡旋振荡提取, 每次30 min。其中, 牛奶和酸奶首次提取使用甲醇, 后续2次提取使用酸化甲醇, 奶酪和乳清蛋白粉首次提取使用乙腈, 后续2次提取使用酸化乙腈, 随后使用弱阴离子交换萃取柱净化。酸化提取显著降低了基质效应, 提高了方法的准确性和重复性。目标化合物在多反应监测模式下检测, 采用同位素内标法定量分析。优化条件下, 各目标PFAS在0.05~10 ng/mL范围内线性关系良好, 相关系数(r^2)均大于0.99, 方法检出限为0.0018~0.068 ng/g, 定量下限为0.0059~0.23 ng/g。待测物的回收率为31.0%~154%, 相对标准偏差(RSD)为0.10%~20%。将该方法用于实际样品检测, PFAS在不同乳制品中均有检出, 牛奶和酸奶中以全氟壬酸(PFNA)为主, 奶酪和乳清蛋白粉中以短链PFAS为主, 总PFAS浓度为小于检出限~3.31 ng/g。该方法具有良好的灵敏度和稳定性, 可为乳制品中PFAS的污染监测及膳食暴露评估提供可靠的技术支持。

关键词: 全氟和多氟烷基物质; 乳制品; 固相萃取; 高效液相色谱-串联质谱

中图分类号: O657.7; TS201.6 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2026)06-0001-10

Determination of 23 Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Dairy Products by Solid-phase Extraction Coupled with High-performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

HU Jia-hao^{1,2,4}, HUANG Ying³, QIE Meng-jie^{1,4}, LI Xiao-tong^{1,4}, SHI Ya-li^{1,4*}, CAI Ya-qi^{1,2,4}

(1. State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Toxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Sino-Danish College, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Fujian Solid Waste and Chemicals Environmental Management Technical Center, Fuzhou 350003, China; 4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: A solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE/HPLC-MS/MS) method was developed for the simultaneous determination of multiple PFAS in dairy products. Milk, yogurt, and cheese samples were freeze-dried prior to extraction. Three successive vortex-assisted extractions were performed using organic solvents, 30 min each. For milk and yogurt, methanol was used in the first extraction, followed by acidified methanol in the subsequent two extractions; for cheese and whey protein powder, acetonitrile was used in the first extraction, followed by acidified acetonitrile in the subsequent two extractions, followed by purification using a WAX cartridge. Compared with non-acidified solvents, acidified methanol and acetonitrile significantly reduced matrix effects and improved method accuracy and precision. The target analytes were detected under multiple reaction monitoring mode and quantified using isotope-labeled internal standards. Under optimized conditions, satisfactory linearity was achieved over the concen-

收稿日期: 2026-03-03; 修回日期: 2026-03-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(22320102005, 22176198); 中国科学院战略性先导科技专项(XDB0750200)

* 通讯作者: 史亚利, 博士, 研究员, 研究方向: 环境化学, E-mail: shiyali@rcees.ac.cn

tration range of 0.05–10 ng/mL, with correlation coefficients (r^2) exceeding 0.99. The limits of detection (LODs) ranged from 0.0018 to 0.0682 ng/g, and limits of quantitation (LOQs) ranged from 0.0059 to 0.23 ng/g. The recoveries of analytes were between 31.0% and 154% and the relative standard deviation were 0.1%–20%. Application of the method to commercial dairy products revealed the presence of PFAS in different dairy categories, with total PFAS concentrations ranging from below the detection limit to 3.31 ng/g. PFNA was the dominant PFAS in milk and yogurt, whereas short-chain PFAS were more frequently detected in cheese and whey protein powder. Overall, the developed method exhibited good sensitivity and stability, providing a reliable analytical approach for PFAS monitoring in dairy products and dietary exposure assessment.

Key words: per- and polyfluoroalkyl substances; dairy products; solid phase extraction; HPLC-MS/MS

全氟和多氟烷基物质(PFAS)是一类广泛用于工业生产和消费品中的含氟有机化合物。由于其在环境中的高度稳定性及潜在的生态与健康风险, PFAS近年来受到广泛关注, 并已在水、土壤、空气、食品、生物样本等多种介质中被普遍检出。研究表明, PFAS具有持久性有机污染物的典型特性, 包括毒性^[1-3]、环境持久性^[4]、生物蓄积性^[5-7]及长距离迁移能力^[8-9]。

PFAS可通过多种途径进入人体, 包括膳食摄入、饮用水、吸入以及皮肤接触等。其中, 膳食摄入被认为是最重要的暴露途径之一^[10]。已有研究在多种食品中检测到PFAS, 包括肉类、蔬菜、水果、乳制品、蛋类、水产品以及加工食品等^[11-16]。PFAS在食品中的广泛存在对公众健康构成潜在风险。与PFAS暴露相关的毒理学效应包括内分泌干扰^[17-18]、代谢紊乱^[1,19-20]、氧化应激^[21-22]、免疫毒性^[23-24]、肝毒性^[3, 25]、生殖毒性^[26]以及致癌风险^[27-28]等。

欧盟于2022年建议对12类食品开展系统性监测^[29], 并于2023年首次对部分食品类别中全氟辛基磺酸(PFOS)、全氟辛酸(PFOA)、全氟壬酸(PFNA)和全氟己基磺酸(PFHxS)4种优先PFAS制定了最大限量标准^[30]。乳制品是现代膳食结构中的重要组成部分。乳制品中PFAS的来源主要包括奶牛摄入受污染的饮用水和饲料, 随后经体内转移进入乳汁^[31-32]。与肉类和水产品相比, 牛奶中的PFAS水平通常较低。然而, 对于某些特定PFAS, 牛奶在人体暴露中的贡献仍不容忽视。有研究指出, 通过牛奶摄入PFOS约占总膳食摄入量的25%^[33]。此外, 牛奶还可被进一步加工成多种乳制品。乳制品加工在促进消费的同时, 也可能因浓缩效应或加工过程中的污染引入, 导致产品中PFAS含量升高^[34-35], 从而使部分加工乳制品中PFAS浓度高于生牛乳。因此, 在开展牛奶中PFAS监测的基础上, 进一步拓展研究范围, 涵盖更多类型的加工乳制品, 以全面掌握该类食品中PFAS的污染状况具有重要意义。然而, 受食品基质复杂性的影响, 尤其是乳制品中高脂肪、高蛋白成分的干扰, 现有PFAS分析方法普遍存在前处理步骤繁琐、样品消耗量大、分析周期长以及基质效应显著等问题, 在一定程度上制约了相关研究的深入开展和大规模监测工作的推进。

本研究通过系统优化样品前处理条件和净化策略, 旨在构建一种样品用量少、分析效率高、灵敏度好、可同时测定乳制品中23种PFAS的分析方法。

1 实验部分

1.1 试剂和材料

甲醇(MeOH, 色谱纯)、乙腈(ACN, 色谱纯)和乙酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$, 色谱纯)、氢氧化铵(NH_4OH , 50%)购自美国Thermo Fisher Scientific公司; 盐酸(HCl, 优级纯)购自中国国药集团化学试剂有限公司; 冰醋酸(CH_3COOH , 色谱纯)购自中国上海麦克林生化科技有限公司。超纯水由Genie PURIST超纯水系统(中国RephiLe Bioscience公司)制备。

全氟丁酸(PFBA)、全氟戊酸(PFPeA)、全氟己酸(PFHxA)、全氟庚酸(PFHpA)、全氟辛酸(PFOA)、全氟壬酸(PFNA)、全氟癸酸(PFDA)、全氟十一烷酸(PFU_nDA)、全氟十二烷酸(PFDoDA)、全氟十三烷酸(PFTrDA)、全氟十四烷酸(PFTeDA)、全氟丁基磺酸(PFBS)、全氟戊基磺酸(PFPeS)、全氟己基磺酸(PFHxS)、全氟庚基磺酸(PFHpS)、全氟辛基磺酸(PFOS)、全氟壬基磺酸(PFNS)、全氟癸基磺酸(PFDS)、6:2氯代多氟烷基醚磺酸(6:2 Cl-PFESA)、8:2氯代多氟烷基醚磺酸(8:2 Cl-

PFESA)、全氟丁基磺酰胺(FBSA)、全氟己基磺酰胺(FHxSA)和全氟辛基磺酰胺(FOSA)标准品以及同位素内标物 $^{13}\text{C}_4$ -PFBA、 $^{13}\text{C}_4$ -PFOA、 $^{13}\text{C}_2$ -PFDA、 $^{13}\text{C}_2$ -PFDODA、 $^{13}\text{C}_4$ -PFHxS和 $^{13}\text{C}_4$ -PFOS均购自加拿大Wellington Laboratories公司。Oasis WAX固相萃取小柱(150 mg/6 mL, 30 μm)购自美国Waters公司。一次性有机针式过滤器(尼龙, 13 mm, 0.22 μm)购自卅克SACO公司。

本研究所用乳制品均购自网络电商平台, 并记录每个样品的基本信息。牛奶、酸奶和奶酪样品于4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冷藏保存, 乳清蛋白粉样品则在原包装条件下于室温保存, 直至后续分析。

1.2 仪器及检测条件

分析采用UltiMate 3000液相色谱系统(Thermo Fisher Scientific, 美国)联用配有ESI源的AB SCIEX Triple Quad 4500三重四极杆质谱仪(AB SCIEX, 美国)。质谱系统在负离子电喷雾电离模式(ESI-)和多反应监测(MRM)模式下运行。使用Analyst 1.6.2软件进行数据处理。

色谱分离采用Acclaim 120 C_{18} 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 2.2 μm ; Thermo Fisher Scientific, 美国), 柱温为40 $^{\circ}\text{C}$ 。流动相A为10 mmol/L乙酸铵水溶液, 流动相B为甲醇。进样体积为10 μL , 流速为0.3 mL/min。梯度洗脱程序如下: 0~1 min, 5% B; 2~9 min, 5%~70% B; 9~9.1 min, 70%~95% B; 9.1~12 min, 95% B; 12~12.1 min, 95%~5% B; 12.1~17 min, 5% B。

质谱检测参数: 气帘气(CUR)为0.07 MPa; 碰撞气(CAD)为0.06 MPa; 离子喷雾电压(IS)为-1700 V; 离子源温度(TEM)为450 $^{\circ}\text{C}$; 离子源气体1(GS1)为0.45 MPa; 离子源气体2(GS2)为0.48 MPa。表1列出了23种目标化合物的离子对、解簇电压(DP)、碰撞能量(CE)、碰撞池出口电位(CXP)和保留时间(RT)。

表1 目标PFAS的质谱参数及色谱保留时间
Table 1 Mass spectrometric parameters and retention times of target PFAS

Analyte	Precursor ion(m/z)	Product ion(m/z)	DP/V	EP/V	CE/V	CXP/V	RT/min
PFBA	212.8	168.8*	-20	-10	-12	-8	6.60
PFPeA	262.8	218.9*	-20	-10	-11	-9	7.22
PFHxA	312.8	269.0*	-17	-10	-13	-13	7.60
PFHpA	362.8	319.0*	-25	-10	-11	-13	7.95
PFOA	412.8	369.0*/169.0	-45	-7	-12	-15	8.35
PFNA	462.8	419.1*	-25	-10	-14	-15	8.79
PFDA	512.8	469.1*	-30	-10	-15	-15	9.28
PFUnDA	562.8	519.1*	-30	-10	-16	-20	9.87
PFDODA	612.8	569.0*	-30	-10	-17	-20	10.48
PFTtDA	662.8	619.0*	-40	-10	-18	-10	11.08
PFTeDA	712.8	669.0*	-40	-10	-18	-10	11.66
PFBS	298.8	79.9*/99.0	-80	-6	-63	-5	7.28
PFPeS	348.8	79.7*/99.0	-80	-4	-70	-6	7.62
PFHxS	398.8	79.9*/99.0	-80	-10	-80	-6	7.96
PFHpS	448.9	79.7*/99.0	-100	-10	-90	-7	8.33
PFOS	498.8	79.9*/99.0	-79	-10	-105	-7	8.77
PFNS	548.8	79.8*/99.0	-110	-7	-110	-7	9.26
PFDS	598.8	79.9*/99.0	-80	-11	-120	-5	9.84
6 : 2 Cl-PFESA	530.6	351.0*/83.0	-85	-10	-36	-12	9.01
8 : 2 Cl-PFESA	630.7	450.9*/83.0	-110	-10	-40	-20	10.16
FBSA	297.8	77.9*	-80	-10	-50	-13	7.78
FHxSA	397.9	77.9*	-90	-10	-70	-7	8.72
FOSA	497.9	77.9*/169.0	-110	-10	-85	-21	9.95
$^{13}\text{C}_4$ -PFBA	216.9	171.9*	-20	-6	-12	-13	6.60
$^{13}\text{C}_4$ -PFOA	416.8	372.1*	-50	-10	-13	-15	8.35
$^{13}\text{C}_2$ -PFDA	515.0	470.0*	-40	-3	-15	-15	9.28
$^{13}\text{C}_2$ -PFDODA	614.8	570.0*	-60	-8	-15	-13	10.48
$^{13}\text{C}_4$ -PFHxS	403.0	102.9*	-110	-3	-75	-10	7.96
$^{13}\text{C}_4$ -PFOS	502.8	79.9*	-100	-10	-105	-7	8.77

*quantitative ion

1.3 样品前处理

牛奶、酸奶和奶酪样品首先置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下预冷冻8 h, 随后在真空条件下冷冻干燥48 h, 充分

去除样品中的水分。再将样品研磨成均匀细粉,充分混匀后置于密封聚丙烯容器中保存备用。乳清蛋白粉样品无需冷冻干燥,直接在原包装中保存,使用前充分混匀。

准确称取 1.0 g 干燥样品于 15 mL 聚丙烯离心管中,并加入 2 ng 同位素标记内标混合溶液,在室温下静置 30 min,使内标与样品基质充分结合。随后向离心管加入 5 mL 甲醇作为提取溶剂,涡旋提取 10 min,然后超声提取 30 min,以 3 500 r/min 离心 10 min,收集上清液。为比较提取效果,使用乙腈作为提取溶剂作为对照。重复上述提取步骤 2 次,每次提取前将沉淀充分破碎,合并提取上清液,置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻过夜($\geq 12\text{ h}$)促进脂肪析出,然后以 3 500 r/min 离心 10 min 去除脂质。将上清液转移至新的聚丙烯离心管中,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下氮吹浓缩至约 2 mL,再次置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻过夜,去除残余脂肪。离心分离,将上清液用超纯水稀释至 40 mL,进行固相萃取净化。

固相萃取净化选用 Oasis Wax(150 mg/6 mL, Waters)小柱进行,上样前 Oasis WAX 小柱依次用 4 mL 0.5% 的氨水-甲醇溶液、4 mL 甲醇和 8 mL 超纯水进行活化。上样过程控制流速约 1 mL/min。样品装载完成后依次用 4 mL 25 mmol/L 的醋酸铵-冰醋酸缓冲液和 8 mL 超纯水淋洗 WAX 柱,去除离子性基质干扰物。待清洗液流干后用真空泵抽干残余水分。最后依次用 4 mL 甲醇和 4 mL 0.5% 的氨水-甲醇溶液对目标化合物进行洗脱。将洗脱液在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下氮吹浓缩并定容至 1 mL。最终提取液经 0.22 μm 滤膜过滤后转移至进样瓶,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存至仪器分析。

1.4 质量控制

在研究过程中,避免使用含氟材料的器皿,所有耗材使用前均用甲醇清洗,所有前处理所用试剂空白均未检出目标化合物。每批样品加做 1 个程序空白,样品测定开始和结束时加入 2 ng/mL 标准溶液为质控样,以监测仪器运行状态。2 ng/mL 标准溶液中 PFAS 的色谱图如图 1 所示。

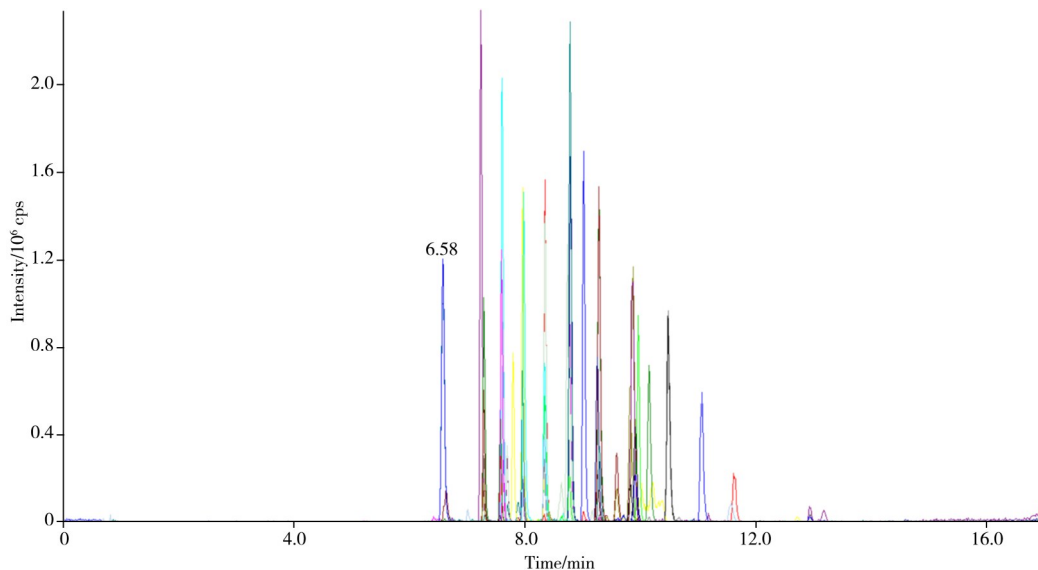


图 1 2 ng/mL PFAS 标准溶液的色谱图
Fig. 1 Chromatogram of PFAS in a 2 ng/mL standard solution

2 结果与讨论

2.1 前处理条件优化

2.1.1 提取时间优化 考察了甲醇、乙腈作为提取溶剂在不同提取时间下对乳制品中 PFAS 的萃取效率。结果表明,当涡旋时间为 10 min,重复提取 2 次时,样品的萃取效率普遍不足 20%,且平行性较差,相对标准偏差(RSD)大于 30%,提示提取步骤可能存在不稳定因素。乳制品富含蛋白质和脂肪,加入大量有机溶剂蛋白质会变性并沉淀。PFAS 易通过疏水作用与静电相互作用和蛋白质形成非共价结合,短时间涡旋可能难以破坏这种结合,或无法使 PFAS 从沉淀蛋白中充分释放,进而影响萃取效率与重复性。此外,不同样品中蛋白质含量及其沉淀程度存在差异,也可能导致 PFAS 的释放速率存在波动,进而影响方法重复性。这表明在高蛋白基质中,仅依赖短时间有机溶剂沉淀蛋白的提取策略,可

能不足以实现稳定且充分的目标物释放。

为提高萃取效率，将每次涡旋时间由10 min延长至30 min，同时将提取次数增加为3次。结果表明，增加提取时长后，提高了PFAS的萃取效率。以牛奶为例，使用甲醇或乙腈提取时的萃取效率分别达到22.1%~92.0%和19.4%~79.0%(图2A)。使用两种溶剂提取PFBA的效率最高，分别为92.0%(甲醇提取)和79.0%(乙腈提取)，但其他全氟烷基羧酸(PFCAs)和全氟烷基磺酸(PFSAs)的萃取效率均不足50%(甲醇：22.1%~43.1%；乙腈：23.0%~45.3%)。使用甲醇和乙腈提取酸奶中PFAS的萃取效率分别为18.2%~44.5%和28.8%~105%(图2B)，使用乙腈的提取效果整体优于甲醇。对于奶酪，使用甲醇和乙腈提取PFAS的萃取效率分别为21.9%~77.7%和35.2%~112%(图2C)，与甲醇相比(29.2%~42.8%)，乙腈提取短链和中链PFAS(C₄~C₈)的效率更高(49.0%~58.9%)，而长链PFAS的萃取效率差异不明显，这可能与奶酪高脂高蛋白的基质特性有关。使用甲醇和乙腈提取乳清蛋白粉中PFAS的效率无明显差异，分别为31.3%~51.9%和13.3%~61.5%(图2D)。

综合来看，延长提取时间能够提高目标物的萃取效率，但整体萃取效率仍较低，表明增加提取次数和时间仍无法完全释放基质中的PFAS。因此，后续优化聚焦溶剂条件的调整，以提升方法的准确性和适用性。

2.1.2 提取溶剂优化 基于PFAS在蛋白质及脂质的结合可能受体系pH值影响，进一步考察了不同溶剂对乳制品中PFAS的萃取效率。在延长提取时间的基础上，通过调节溶剂酸化条件改善PFAS的释放效率和稳定性，第一次提取仍采用甲醇(或乙腈)，第二次和第三次提取则使用含0.01 mol/L盐酸的甲醇(或乙腈)。引入酸化试剂后，4种乳制品中PFAS的萃取效率均获得明显提升(图2)，表明酸化溶剂在释放结合态PFAS及抑制基质效应方面发挥了重要作用。

酸化甲醇和酸化乙腈对牛奶中PFAS的萃取效率分别为37.1%~94.3%和46.6%~113%(图2A)；对酸奶中PFAS的萃取效率分别为30.0%~66.8%和19.7%~98.0%(图2B)，整体效果相当。酸化甲醇和酸化乙腈对奶酪中PFAS的萃取效率分别为45.7%~88.2%和30.2%~123%(图2C)；对乳清蛋白粉中PFAS的萃取效率分别为11.0%~70.3%和25.6%~77.7%(图2D)。提取溶剂酸化处理后，与甲醇相比(45.7%~76.5%)，乙腈对奶酪中短链和中链PFAS(C₄~C₈)提取效率的优势仍然存在(69.3%~104%)，说明对于高脂或高蛋白基质而言，溶剂类型对萃取效率的影响大于pH值调控作用，溶剂本身的理化性质仍是决定中短链PFAS提取效率的关键因素。

部分PFAS在初始提取体系中萃取效率偏低，可能与食品基质中的非特异性吸附及共提取干扰有关。酸化溶剂的引入可改变体系pH值，削弱目标物与基质直接的相互作用，从而促进结合态PFAS的解离。弱酸性条件可诱导蛋白质构象变化，降低蛋白质表面结合位点对PFAS的亲合能力，同时有助于破坏静电吸附作用，使目标物更充分地释放至提取溶剂中。此外，酸化体系还能在一定程度上抑制基质共提取物的溶出，从而提升方法的重复性。进一步分析发现，PFCAs的萃取效率随碳链长度增加呈逐渐降低趋势，这可能与疏水性增强、在脂质相中分配比例升高有关；相比之下，PFSAs受链长影响较小，其萃取效率更多受到基质类型及提取溶剂极性的影响。

综上所述，酸化甲醇更适用于牛奶和酸奶中多数PFAS的提取；而对于高蛋白、高脂质基质(乳清蛋白粉和奶酪)，酸化乙腈对中链和短链PFCAs和PFSAs表现出更优的提取效率。因此，对于牛奶和酸奶样品，首次提取使用甲醇，后续2次提取使用酸化甲醇；对于奶酪和乳清蛋白粉样品，首次提取使用乙腈，后续2次提取使用酸化乙腈。

2.2 基质效应评估

基质效应(ME)是指样品基质中共提取组分在质谱电离过程中对目标分析物信号产生抑制或增强的现象。基质效应采用2 ng/g加标浓度进行评估，并设置3个平行样($n=3$)进行测定。以下式计算： $ME=(A_s-A_0)/A_c \times 100\%$ ，其中， A_0 是未加标乳制品中分析物的实际峰面积， A_c 是对应加标浓度标准溶液中分析物的实际峰面积， A_s 是经前处理后空白加标样品中分析物的实际峰面积。

在牛奶和酸奶中，纯甲醇的基质效应分别为59.8%~216%和39.5%~104%；酸化甲醇的基质效应分别为61.6%~225%和37.8%~104%。在奶酪和乳清蛋白粉中，纯乙腈的基质效应分别为67.0%~231%和68.4%~283%；酸化乙腈的基质效应分别为63.2%~236%和55.1%~220%。整体变化幅度较小，表明酸化

处理对乳制品基质效应的影响较小。

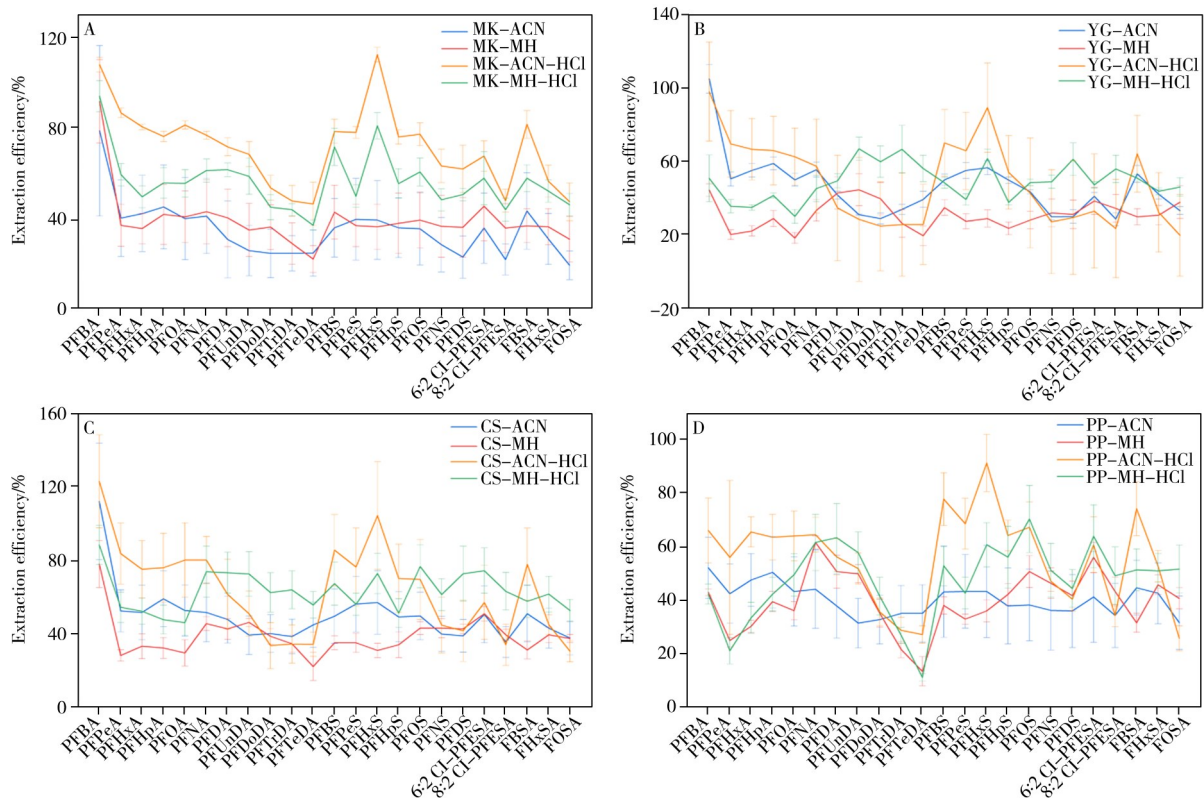


图 2 不同方法提取牛奶(A)、酸奶(B)、奶酪(C)、乳清蛋白粉(D)中PFAS的萃取效率

Fig. 2 Extraction efficiencies of PFAS in milk(A), yogurt(B), cheese(C) and whey protein powder(D)

MK: 牛奶, YG: 酸奶, CS: 奶酪, PP: 乳清蛋白粉; MH: 甲醇, ACN: 乙腈, HCl: 酸化处理

不同处理条件下, 4种乳制品中PFAS的基质效应表现出一定差异。总体上, 4种乳制品中PFBA均表现出明显的基质增强效应, 在牛奶、奶酪和乳清蛋白粉中PFBA的ME可达到约200%, 乳清蛋白粉中PFPeA的基质增强程度更高(283%), PFBS也在一定程度上表现出基质增强(117%~127%), 提示短链PFAS在复杂食品基质中更易受到共提取极性组分的电离促进作用, 这可能与其水溶性较强、疏水性较低有关, 使其在提取过程中更倾向于与蛋白质、低分子有机酸等极性基质成分共存, 进而在电喷雾电离过程中产生信号增强。在酸奶基质中, 除PFBA表现出轻微基质增强外, 其余目标化合物均呈现基质抑制效应, ME约为30%~80%。这可能与酸奶中乳酸菌代谢产物及蛋白凝胶结构有关: 发酵过程中产生的大量有机酸、小分子肽及多糖类物质, 可能增加竞争电离效应, 从而削弱目标PFAS的响应信号。

引入酸化试剂后, 部分PFAS(如FBSA、FH_xSA、PFHpS、PFOS和6:2 Cl-PFESA)的基质效应由轻微增强转变为轻微抑制, 部分PFCAs(如PFHxA、PFHpA、PFOA、PFT_rDA和PFT_eDA等)的基质抑制程度有所增强, 表明酸化处理在一定程度上改变了共提取基质组分的电离行为。酸化环境可能促进基质中部分弱极性可电离杂质的质子化, 降低其在电喷雾电离过程中参与竞争的能力, 同时削弱蛋白质等共存物对目标PFAS的电离促进作用, 从而整体上强化基质抑制效应。

鉴于部分乳制品仍存在明显的基质效应, 可能对目标化合物的响应造成系统性偏差, 本研究采用结构相似的稳定同位素标记内标进行校正, 以确保方法的准确性与稳定性。

2.3 方法性能评估

2.3.1 线性范围、检出限和定量下限

采用标准曲线法结合内标校正对目标PFAS进行定量。向各标准溶液中加入2 ng同位素标记内标, 配制含有PFAS的混合标准溶液绘制标准曲线, 标准溶液系列浓度为0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00 ng/mL。以各组分的质量浓度为横坐标, 以目标化合物定量离子峰面积与其对应同位素内标峰面积之比为纵坐标, 建立线性回归方程。结果表明, 23种PFAS在0.05~10 ng/mL范围内均具有良好的线性关系, 相关系数(r^2)均大于0.99。分别以信噪比(S/N)为3和10时对应的浓度计算方法检出限(LOD)和定量下限(LOQ), 23种PFAS的LOD为0.001 8~0.068 ng/g, LOQ为0.005 9~0.23 ng/g(见表2)。

表2 23种PFAS的线性方程、相关系数、方法检出限和定量下限
Table 2 Regression equations, r^2 , LODs and LOQs of 23 PFAS

Analyte	Regression equation	r^2	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
PFBA	$y=0.431x-0.0075$	0.9997	0.063	0.21
PFPeA	$y=0.913x-0.0104$	0.9989	0.068	0.23
PFHxA	$y=0.935x-0.0204$	0.9988	0.0075	0.025
PFHpA	$y=0.567x-0.00245$	0.9996	0.043	0.14
PFOA	$y=0.571x+0.00575$	0.9985	0.042	0.14
PFNA	$y=0.603x-0.00627$	0.9999	0.022	0.074
PFDA	$y=0.522x+0.00678$	0.9992	0.054	0.18
PFUnDA	$y=1.37x-0.148$	0.9973	0.030	0.10
PFDoDA	$y=1.06x-0.0425$	0.9986	0.035	0.12
PFTTrDA	$y=0.63x+0.00502$	0.9999	0.018	0.060
PFTeDA	$y=0.332x-0.00748$	0.9983	0.048	0.16
PFBS	$y=2.11x-0.0877$	0.9996	0.0088	0.029
PFPeS	$y=1.87x-0.0405$	0.9999	0.010	0.033
PFHxS	$y=1.63x-0.0484$	0.9995	0.0055	0.018
PFHpS	$y=2.37x-0.0569$	0.9996	0.0029	0.010
PFOS	$y=0.663x-0.0193$	0.9997	0.0042	0.014
PFNS	$y=0.451x-0.0112$	0.9996	0.0018	0.0060
PFDS	$y=0.371x-0.00669$	0.9999	0.0070	0.023
6:2 Cl-PFESA	$y=0.526x-0.0133$	0.9991	0.0048	0.015
8:2 Cl-PFESA	$y=0.352x-0.00234$	0.9992	0.0083	0.016
FBSA	$y=2.81x-0.0319$	0.9999	0.0083	0.016
FHxSA	$y=5.1x-0.0575$	0.9996	0.0018	0.0059
FOSA	$y=1.2x-0.0298$	0.9996	0.018	0.059

2.3.2 加标回收率和相对标准偏差 对4种乳制品按照优化后的方法,分别在低、中、高(1、2、5 ng/g)3种浓度水平进行加标回收实验,每种基质设置3个平行样品,计算各化合物的基质加标回收率以考察方法准确性,以加标回收率的RSD考察方法重复性。如表3所示,3种加标水平下牛奶中PFAS的回收率分别为60.9%~129%、44.9%~154%和73.3%~130%,RSD分别为0.60%~14%、0.90%~14%和0.10%~10%;酸奶中分别为31.0%~146%、46.9%~144%和43.0%~138%,RSD分别为1.0%~16%、2.1%~20%和0.60%~18%;奶酪中分别为58.1%~135%、51.8%~140%和56.3%~129%,RSD分别为2.6%~15%、1.6%~17%和2.9%~15%;乳清蛋白粉中分别为54.8%~143%、44.6%~118%和57.9%~123%,RSD分别为1.7%~17%、0.10%~16%和0.20%~9.7%,表明该方法满足定量要求。

表3 乳制品的基质加标回收率和相对标准偏差
Table 3 Matrix spike recoveries and RSDs of dairy products

Analyte	Spiked/(ng·g ⁻¹)	Milk	Yogurt	Cheese	Protein powder
		Recovery±RSD/%	Recovery±RSD/%	Recovery±RSD/%	Recovery±RSD/%
PFBA	1	111±3.5	111±10	109±14	111±4.5
	2	106±6.7	93.2±6.9	90.7±4.8	104±4.6
	5	113±0.6	114±0.6	116±4.3	99.9±4.3
PFPeA	1	60.9±12	60.9±8.3	106±15	117±7.4
	2	44.9±2.9	46.9±3.3	51.8±1.7	94.2±3.9
	5	81.8±10	65.9±1.9	118±4.1	120±2.9
PFHxA	1	91.8±10	97.7±7.7	77.3±10	81.7±6.6
	2	91.3±8.1	105±3.5	80.3±8.3	118±2.3
	5	99.7±2.7	90.6±4.7	83.4±6.9	82.8±6.0
PFHpA	1	116±9.5	134±2.9	107±11	105±7.7
	2	119±14	144±3.5	91.5±8.6	110±5.4
	5	119±2.5	123±2.0	109±5.5	101±3.6
PFOA	1	118±4.6	115±7.9	116±8.1	118±3.5
	2	109±11	96.3±11	88.8±4.6	111±5.8
	5	115±1.3	107±5.7	120±3.2	103±3.4
PFNA	1	106±13	87.1±12	130±9.3	143±12
	2	111±0.90	96.5±12	82.7±3.9	101±2.9
	5	105±1.1	82.1±5.7	113±4.0	119±6.0
PFDA	1	115±3.5	109±4.9	99.4±15	99.8±10
	2	99.8±3.5	98.8±7.1	85.6±3.4	106±7.4
	5	103±3.1	98.3±6.5	107±8.9	107±3.5

(续表 3)

Analyte	Spiked/(ng·g ⁻¹)	Milk	Yogurt	Cheese	Protein powder
		Recovery±RSD/%	Recovery±RSD/%	Recovery±RSD/%	Recovery±RSD/%
PFUnDA	1	129±3.5	146±16	135±12	134±1.7
	2	154±17	123±20	95.7±3.1	118±8.4
	5	112±6.8	138±18	129±2.9	105±2.9
PFDoDA	1	123±5.0	117±4.6	125±2.6	121±11
	2	115±12	108±6.7	74.3±5.9	104±8.5
	5	119±6.6	114±3.2	120±5.1	111±4.1
PFTrDA	1	121±3.0	60.5±4.2	129±7.6	116±16
	2	93.0±6.0	99.5±9.2	53.8±1.6	86.5±5.3
	5	123±0.10	56.7±5.5	116±3.1	97.8±1.9
PFTeDA	1	115±6.4	31.0±1.0	102±11	98.5±16
	2	86.9±7.0	93.1±11	69.3±8.5	78.2±5.1
	5	116±5.9	43.0±12	112±4.4	103±9.7
PFBS	1	72.5±5.7	99.2±9.0	59.8±3.5	54.8±8.1
	2	107±7.0	90.8±9.0	89.8±5.8	112±0.10
	5	81.1±2.5	83.2±2.0	63.1±7.2	57.9±0.90
PFPeS	1	67.1±3.5	73.7±3.4	74.2±5.7	71.4±6.7
	2	82.9±3.8	80.5±4.0	81.7±4.4	95.5±5.0
	5	73.3±3.8	69.8±4.0	73.9±11	72.3±2.5
PFHxS	1	99.9±14	106±8.7	116±10	109±5.9
	2	100±1.8	95.8±3.0	96.1±6.3	96.6±6.0
	5	109±4.2	100±4.9	109±9.6	107±2.2
PFHpS	1	84.8±5.8	82.6±4.5	90.7±7.4	85.1±10
	2	103±7.0	89.0±9.1	84.2±5.6	86.5±4.0
	5	88.5±8.3	72.9±3.8	88.5±10	82.7±2.2
PFOS	1	103±5.6	98.9±7.9	122±15	114±8.3
	2	111±4.1	100±2.1	80.3±7.8	117±5.9
	5	108±4.9	94.0±7.5	116±2.9	109±1.9
PFNS	1	119±5.1	124±5.7	109±5.3	113±13
	2	89.0±2.5	103±6.4	76.0±3.9	82.6±2.6
	5	119±0.70	110±3.4	103±7.8	108±3.9
PFDS	1	123±8.1	125±12	103±7.0	120±6.1
	2	84.9±2.0	115±16	69.9±6.3	99.9±3.8
	5	115±1.8	89.4±11	99.9±6.5	111±5.6
6:2 Cl-PFESA	1	111±5.0	114±4.6	116±12	129±17
	2	109±14	101±3.2	92.2±4.0	104±3.9
	5	109±3.3	110±1.8	120±5.1	123±2.0
8:2 Cl-PFESA	1	124±8.5	130±12	101±4.8	119±5.0
	2	68.8±2.6	98.3±13	55.3±6.2	71.7±4.8
	5	130±4.4	102±15	95.1±9.1	116±0.20
FBSA	1	67.5±0.6	84.3±7.5	58.1±3.1	61.4±9.1
	2	81.3±5.0	91.3±4.5	78.5±5.6	108±4.9
	5	79.4±5.1	81.7±7.1	56.3±6.8	60.1±2.0
FHxSA	1	88.0±8.5	114±2.1	76.3±6.4	93.8±13
	2	92.3±4.1	98.3±9.4	63.3±8.8	81.3±8.5
	5	89.5±4.9	113±9.5	66.4±9.9	90.5±1.4
FOSA	1	127±13	125±6.6	72.0±8.3	57.5±2.0
	2	86.0±3.1	97.0±12	52.4±17	44.6±12
	5	122±0.40	111±3.8	78.4±15	59.5±0.80

2.4 实际样品测定

采用优化后的方法定量分析了实际乳制品中PFAS的浓度(图3)。23种PFAS目标物在牛奶和酸奶中各检出7种。牛奶中23种PFAS的总含量为0.166~0.314 ng/g, 酸奶中为0.800~1.34 ng/g。总体来看, 酸奶中的PFAS水平略高于牛奶。PFNA在两类样品中均占主导地位, 在牛奶中的含量为0.0649~0.174 ng/g, 占23种PFAS总量的23.2%~95.3%; 在酸奶中的含量为0.611~1.09 ng/g, 占23种PFAS总量的71.8%~87.4%。其次是PFBA, 在牛奶中的含量为小于检出限~0.0778 ng/g, 占23种PFAS总量的0~26.9%; 在酸奶中的含量为0.0488~0.113 ng/g, 占23种PFAS总量的3.6%~13.3%。此外牛奶中还检出PFHpA(23种PFAS总量: 小于检出限~0.0723 ng/g, 占比0~37.5%)。23种PFAS目标物在奶酪和乳

清蛋白粉样品分别检出7种和5种。这两类乳制品中PFAS污染水平和组成特征均存在明显差异。奶酪中23种PFAS的含量为0.011 9~0.270 ng/g, 乳清蛋白粉中的含量为0.076 0~1.08 ng/g。不同奶酪样品之间PFAS的检出情况差异较大, 可能与不同的原料来源有关。短链PFAS在乳清蛋白粉中占主导地位, 以PFBA(小于检出限~0.490 ng/g, 占比0~77.6%)和FBSA(小于检出限~0.715 ng/g, 占比0~66.1%)为主。目前, 欧盟针对特定食品类别规定了PFOS、PFOA、PFNA和PFHxS的最大限量值, 其中牛奶中上述4种PFAS的总量不得超过0.020 0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。本研究所有牛奶和酸奶样品中的PFAS浓度均超过该阈值, 奶酪与乳清蛋白粉的超标比例亦达到40%, 表明相关乳制品中PFAS的污染水平相对较高。总体而言, 不同乳制品中PFAS的污染特征存在显著差异, 这可能与加工过程中PFAS的迁移与再分配行为, 以及不同产品基质中蛋白质和脂质组成的差异有关。

3 结论

本研究建立并优化了一种适用于乳制品中多种PFAS同时分析的SPE/HPLC-MS/MS方法。通过系统优化提取溶剂类型, 有效降低了乳制品复杂基质的干扰, 提高了目标物的提取效率和检测灵敏度。结果表明, 该方法在较宽的范围内表现出良好线性关系, 具有较低的检出限和较高的加标回收率, 满足乳制品中PFAS的定量分析需求。将该方法用于实际乳制品中PFAS分析, 发现4种乳制品中均检出多种PFAS, 但不同类型乳制品中PFAS的污染水平和组成特征有明显差异, 提示加工过程可能对PFAS的分布有影响。所建方法具有良好的稳定性和适用性, 可为乳制品中PFAS污染监测、暴露风险评估及食品安全研究提供技术支撑。

参考文献:

- [1] Franco M E, Sutherland G E, Fernandez-Luna M T, Lavado R. *Toxicology*, **2020**, 430: 152339.
- [2] Modaresi S M S, Wei W, Emily M, DaSilva N A, Slitt A L. *Toxicology*, **2022**, 465: 153044.
- [3] Zhang X, Zhao L, Ducatman A, Deng C, von Stackelberg K E, Danford C J, Zhang X. *JHEP Rep.*, **2023**, 5(5): 100694.
- [4] Cousins I T, DeWitt J C, Glüge J, Goldenman G, Herzke D, Lohmann R, Ng C A, Scheringer M, Wang Z. *Environ. Sci.: Processes & Impacts*, **2020**, 22: 2307-2312.
- [5] George S E, Baker T R, Baker B B. *Environ. Pollut.*, **2023**, 321: 121123.
- [6] Gkika I S, Arie Vonk J, ter Laak T L, van Gestel C A M, Dijkstra J, Groffen T, Bervoets L, Kraak M H S. *Environ. Int.*, **2025**, 202: 109629.
- [7] Miranda D A, Benskin J P, Awad R, Lepoint G, Leonel J, Hatje V. *Sci. Total Environ.*, **2020**, 754: 142146.
- [8] Chen Y, Wei L, Luo W, Jiang N, Shi Y, Zhao P, Ga B, Pei Z, Li Y, Yang R, Zhang Q. *J. Hazard. Mater.*, **2022**, 443: 130170.
- [9] Söregård M, Bergström S, McCleaf P, Wiberg K, Ahrens L. *Environ. Pollut.*, **2022**, 311: 119981.
- [10] Poothong S, Papadopoulou E, Padilla-Sánchez J A, Thomsen C, Haug L S. *Environ. Int.*, **2020**, 134: 105244.
- [11] Fiedler H, Sadia M, Baabish A, Sobhane S. *Chemosphere*, **2022**, 307: 136038.
- [12] Huang Z, Zhang X, Wang X, Deji Z, Lee H K. *J. Agric. Food Chem.*, **2022**, 70(35): 10836-46.
- [13] Piva E, Fais P, Ioime P, Forcato M, Viel G, Cecchetto G, Pascali J P. *Food Chem.*, **2023**, 410: 135415.
- [14] Consolato S, Francesco R, Mario R A, Rosa A, Cesarina A M, Chiara P. *Chemosphere*, **2024**, 362: 142690.
- [15] Chiumiento F, Bellocci M, Ceci R, D'Antonio S, De Benedictis A, Leva M, Piritto L, Rosato R, Scarpone R, Scorticini G, Tammaro G, Diletti G. *Food Chem.*, **2023**, 401: 134135.
- [16] Abafe O A, Macheke L R, Olowoyo J O. *Molecules*, **2021**, 26(12): 3664.
- [17] Caron-Beaudoin É, Ayotte P, Laouan Sidi E A, Gros-Louis McHugh N, Lemire M. *Environ. Int.*, **2019**, 128: 13-23.
- [18] Lin C Y, Wen L L, Lin L Y, Wen T W, Lien G W, Hsu S H J, Chien K L, Liao C C, Sung F C, Chen P C, Su T C. *J. Hazard. Mater.*, **2013**, 244/245: 637-44.
- [19] Duan Y, Sun H, Yao Y, Li Y, Meng Y, Lu Y, Han L, Chen L. *Sci. Total Environ.*, **2021**, 787: 147476.

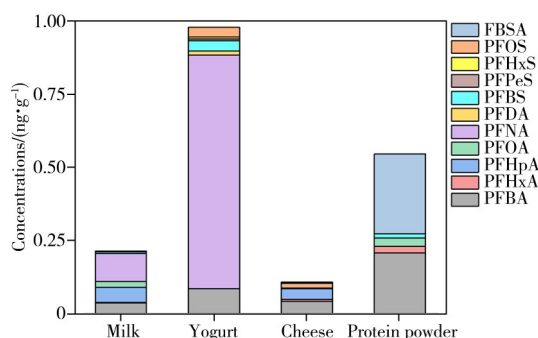


图3 乳制品中PFAS的含量与组成
Fig. 3 Concentration and composition of PFAS in dairy products

- [20] Wu B, Pan Y, Li Z, Wang J, Ji S, Zhao F, Chang X, Qu Y, Zhu Y, Xie L. *Environ. Int.*, **2023**, 172: 107779.
- [21] Zarei M H, Shirazi S F H, Aghvami M, Pourahmad J. *Iran. J. Pharma. Res.*, **2018**, 17(3): 995.
- [22] Xu M, Wan J, Niu Q, Liu R. *Environ. Res.*, **2019**, 175: 63–70.
- [23] Taylor K D, Woodlief T L, Ahmed A, Hu Q, Duncker P C, DeWitt J C. *Toxicol. Sci.*, **2023**, 194(1): 101–108.
- [24] National Toxicology Program. Monograph on Immunotoxicity Associated with Exposure to Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS), 2016. [2026–02–28]. <https://ntp.niehs.nih.gov/go/mgraph04>.
- [25] Sheng N, Pan Y, Guo Y, Sun Y, Dai J. *Environ. Sci. Technol.*, **2018**, 52(14): 8005–8015.
- [26] Luo K, Huang W, Zhang Q, Liu X, Nian M, Wei M, Wang Y, Chen D, Chen X, Zhang J. *Sci. Total Environ.*, **2022**, 833: 155158.
- [27] Shearer J J, Callahan C L, Calafat A M, Huang W Y, Jones R R, Sabbisetti V S, Freedman N D, Sampson J N, Silverman D T, Purdue M P, Hofmann J N. *J. Natl. Cancer Inst.*, **2020**, 113(5): 580–587.
- [28] Wang F, Liu W, Jin Y, Wang F, Ma J. *Environ. Toxicol.*, **2015**, 30(6): 712–23.
- [29] Commission Recommendation (EU) 2022/1431 of 24 August 2022 on the Monitoring of Perfluoroalkyl Substances in Food, 2022.
- [30] Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on Maximum Levels for Certain Contaminants in Food and Repealing Regulation (EC) No 1881/2006 (Text with EEA relevance), 2023.
- [31] Ingelido A M, Abballe A, Gemma S, Dellatte E, Iacovella N, De Angelis G, Marra V, Russo F, Vazzoler M, Testai E, De Felip E. *Environ. Int.*, **2020**, 136: 105435.
- [32] Xiao K, Li X, Xu N, Wang X, Hao L, Bao H, Zhang L, Shi Y, Cai Y. *Sci. Total Environ.*, **2024**, 944: 173902.
- [33] Noorlander C W, van Leeuwen S P J, te Biesebeek J D, Mengelers M J B, Zeilmaker M J. *J. Agric. Food Chem.*, **2011**, 59(13): 7496–7505.
- [34] IntKhaniki G. *J. Dairy Sci.*, **2007**, 2(2): 104–115.
- [35] Surma M, Wiczowski W, Zieliński H, Cieślak E. *Packag. Technol. Sci.*, **2015**, 28(9): 789–799.

(责任编辑: 丁 岩)