

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2015.09.2015011202

张圣虎, 张易曦, 吉贵祥, 等. 生物样品中烷基酚类内分泌干扰物的前处理和分析方法[J]. 环境化学, 2015, 34(9): 1601-1610

ZHANG Shenghu, ZHANG Yixi, JI Guixiang, et al. Pretreatment and analytical methods of alkylphenolic endocrine disrupters in biological samples [J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(9): 1601-1610

生物样品中烷基酚类内分泌干扰物的前处理和分析方法^{*}

张圣虎¹ 张易曦^{1,2} 吉贵祥¹ 刘济宁¹ 石利利^{1**}

(1. 环境保护部南京环境科学研究所, 南京, 210042; 2. 贵州大学资源与环境工程学院, 贵阳, 550025)

摘 要 烷基酚类化合物具有与天然雌激素相似的结构, 是一类典型的内分泌干扰物, 被广泛应用于表面活性剂、纺织印染、橡胶塑料、油溶性酚醛树脂等领域, 已经在环境介质中被广泛检测到。由于酚基类物质通常具有亲脂性和生物累积性, 因此, 生物样品中该类化合物的检测成为健康风险评价的关键。本文对近年来生物样品(生物组织、血液、尿液等)中烷基酚类物质的前处理技术与检测方法进行了综述, 并对未来的发展趋势进行了展望。

关键词 烷基酚, 生物样品, 前处理, 分析方法。

Pretreatment and analytical methods of alkylphenolic endocrine disrupters in biological samples

ZHANG Shenghu¹ ZHANG Yixi^{1,2} JI Guixiang¹ LIU Jining¹ SHI Lili^{1**}

(1. Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing, 210042, China;

2. College of Resources and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang, 550025, China)

Abstract: Alkylphenolic compounds have similar structures to natural estrogen hormones, and are typical endocrine disrupters. They are widely used as surfactants, textile dyeing and finishing materials, rubbers and plastics, oil-soluble phenolic resins et al, and have been detected in various environmental compartments. Determination of alkylphenolic compounds in biological samples is a key to estimate the associated health risk due to lipophilicity and bioaccumulation. The aim of this review was to present the pretreatment and analytical methods of alkylphenolic compounds in biological samples(including urine, blood, bile et al). In addition, outlook on the future developments was also presented.

Keywords: alkylphenol, biological samples, pretreatment, analytical methods.

环境内分泌干扰物(Endocrine disrupting chemicals, EDCs)是一类存在于环境中能够干扰生物体正常内分泌功能的外源性物质, 通常在环境中暴露浓度极低(ppt—ppb), 且急性毒性很弱, 但是与生物体生殖障碍、发育异常、代谢紊乱及某些癌症(如乳腺癌、睾丸癌、前列腺癌等)的发生具有密切联系^[1-3]。1996年12月, 欧盟针对内分泌干扰物对人体健康和生物体的影响首次展开讨论, 并将其分为以下几类: (1)有机卤代化合物; (2)烷基酚类(Alkylphenols, APs), 邻苯二甲酸酯类; (3)类固醇类雌激素; (4)杀虫剂; (5)植物雌激素^[4]。其中, APs 由于具有明显的环境雌激素效应而成为关注和研究的重点。该类化合物是重要的精细化工原料, 广泛应用于表面活性剂、纺织印染、橡胶塑料的防老抗氧剂、油溶性酚醛树脂等领域, 通常具有亲脂性和生物累积性, 较强的化学稳定性, 一旦摄入生物体内不易降解和排除。

2015年1月12日收稿。

^{*} 国家高技术研究发展计划(863计划)(2013AA06A308)资助。

^{**} 通讯联系人, Tel: 15366090974; E-mail: sl@nies.org.

其中,APs 中最重要的是壬基酚(NP)和辛基酚(OP),同属于联合国 UNEP 制定的持久性有毒化学污染物^[5]。

APs 在环境介质中已经被广泛检出^[1-16],使得人们更加关心 APs 在人体内的含量。目前,APs 对人体的暴露途径主要通过家用洗洁剂、塑料制食品包装袋、桶装饮用水等的使用进入人体^[6-8,16]。有研究发现,在德国食品中 NP 的检测浓度最高可达 $19.4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[8],而在台湾的大部分食品中也能检测到 NP,浓度范围在 $5.8\text{—}235.8 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[17]。因此,对生物样品(生物组织、血液、尿液等)中烷基酚类化合物的分析检测方法就显得十分重要,本文主要对 APs 在生物组织、血液、尿液等生物样品中的前处理及分析方法进展做出详细综述。

1 样品前处理方法与分析技术

目前,对实际生物样品中的 APs 检测仍存在一定的困难和挑战。首先,由于 APs 在尿液、血液、胆汁等生物样品中的含量通常很低,而且容易受到一些蛋白质和磷脂质等基质的干扰,不易直接检测;其次,这类化合物均含有苯环状结构,具有较强的亲脂性,在生物体内易被快速葡萄糖苷酸化和硫酸酯化^[18],转化成葡萄糖苷结合物和硫酸酯结合物的共轭化合物^[19-20],并通过血液流经肾脏,最终经尿液等排泄物排出体外^[21],一般这些结合态的 APs 的半衰期只有 5.3 h ^[22]。这些因素都降低了 APs 在生物样品中的检出浓度,加大了其检测难度,而检测生物样品中游离态以及结合态 APs 的总量,将有利于更好的研究该类物质的暴露水平与人体健康的相关性。

通常,APs 的分析检测方法有液相色谱法(LC)^[23-32]、液相色谱-质谱法(LC-MS)^[33-42]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[43-53]等。但是由于生物样品基质干扰较大,且该类化合物在生物体内容易形成葡萄糖苷结合物和硫酸酯结合物共轭化合物,游离态的含量一般较低,因此,建立快速有效的生物前处理方法成为 APs 分析检测的关键。目前,应用较多的前处理方法包括液液萃取法(Liquid-liquid extraction, LLE)、固相萃取法(Solid phase extraction, SPE)、固相微萃取技术(Solid Phase Micro extraction, SPME)、搅拌棒吸附萃取技术(Stir-bar-sorptive extraction, SBSE)、加速溶剂萃取法(Accelerated solvent extraction, ASE)、基质固相分散萃取(Matrix Solid -Phase Dispersion extraction, MSPD)。

1.1 尿液和血液中 APs 的前处理方法

检测尿液和血液中的 APs,需要将它们从结合物中解离出来才能准确的测定 APs 的含量。在前处理中通常采用以下两种方法解离 APs 的结合物:(1)酸水解法,在样品中加入 1 mL 甲醇和 0.3 mL 浓盐酸,并将其置于较高温度的水浴中反应 $20\text{—}60 \text{ min}$ ^[37,46-47];(2)酶解法,在样品中加入 β -葡萄糖醛酸酶和硫酸酯酶于 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下水浴反应^[31,36-37,43-54]。两种解离方法相比较而言,虽然酶解法的解离效率较高,由少量的酶即可将目标物解离,但是费用较高。

1.1.1 尿液和血液中 APs 的萃取方法

对于解离后的 APs 的萃取,传统且较多使用的是液-液萃取法,是一种通用的样品前处理方法,主要根据液态样品中各组分在萃取试剂中溶解度的差异以达到目标物质与基质间分离的目的,萃取效率取决于目标物质在两相间的溶解差异。在生物样品中使用一些如乙酸乙酯^[23]、三氯甲烷^[24]等有机溶剂还可以起到沉淀基质中蛋白质等干扰物质的作用。王世玉^[52]等以 EPA 3520 对酚类物质的液液萃取方法为基础,对 12 种 NP 的同分异构体的萃取条件进行优化,结果表明在二氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯为萃取剂的条件下,回收率分别为 $75.1\%\text{—}86.6\%$ 、 $64.9\%\text{—}73.2\%$ 、 $53.0\%\text{—}67.8\%$ 。郑力行和肖全伟等^[25-26]优化了液-液萃取方法,对萃取剂的比例进行调整,结果发现当正己烷与乙醚的比例为 $1:1$ 时,4-NP 的萃取率最高可达 85.4% 。该方法样品使用量较大,处理生物样品时容易出现乳化现象。目前,由于萃取剂使用量较大容易对操作人员造成一定的健康危害,还会对环境造成较大的二次污染,仅有少数国内研究中应用了液液萃取方法提取生物样品中 APs。

此外,应用较多的还有固相萃取技术,一种液-固分离萃取的样品前处理方法。该方法具有低污染、简单、效率高、再现性好、不易乳化等优点,已被广泛用于液体样品中痕量有机物的前处理^[37]。SPE 过程一般分为柱子活化、上样、淋洗和洗脱。通过样品的均一化分离和提纯可达到一步完成,比较适用于生物样品的前处理,但若处理大量样品使用费用较大。目前,常使用的固相萃取 SPE 小柱有 Supelco 公司的

ENVI-18 小柱、美国 Waters 公司的 Oasis HLB SPE、北京 Dikma 公司的 C18 SPE 小柱等。张宏等^[4]使用 ENVI-18 C18 固相萃取小柱处理酸水解后的尿样,结果表明 NP 等 6 种环境雌性激素的平均回收率可达 86.7%—111.0%;Kuklenyik 等^[8]使用 200 mg/3 mL 的 Bond Elute PPL SPE 小柱处理酶解后的人体尿液,3-叔丁基苯酚(3tBP)、4-叔丁基苯酚(4tBP)、叔辛基酚(tOP)、nOP、nNP 的加标浓度分别为 1、5、50 ng·mL⁻¹时,回收率分别在 99%—115%、91%—113%、94%—109%、100%—105% 和 99%—105% 之间;Xiao 等^[31,37]利用 Oasis HLB SPE(200 mg/3 cc,美国 Waters 公司)小柱处理酶解后的人体尿液,NP 和 OP 的加标浓度为 50 ng·mL⁻¹时,两种目标化合物的平均回收率分别为 85.4% 和 87.5%,相对标准偏差(RSD)分别是 7.08% 和 8.9%;Li 等^[7]使用 Supelclean ENVI-18 小柱(500 mg/3 mL,美国 Supelco 公司)提取酶解后的人体尿液中的 4-NP,加标浓度为 5、20、100 ng·L⁻¹时,回收率分别为 94%±26%、98%±13%、98%±3%。此外,研究发现,SPE 小柱上存在少量的壬基酚^[37],在使用 SPE 萃取尿液中 APs 时,为避免小柱自身杂质带来的影响,通常会将酶解或酸水解后的样品调节至弱酸性^[7,31,37,47-48]。鲍惠惠等^[38]在处理血液中烷基酚类化合物时,比较了 C₁₈ 小柱(300 mg/5 mL,美国 Supelco 公司)、ProElut-C₁₈ 小柱(60 mg/3 mL,北京 Dikma 公司)、ProElut-PLS 小柱(60 mg·mL⁻¹,北京 Dikma 公司)、Oasis HLB 小柱(30 mg·mL⁻¹,美国 Waters 公司)的效果,回收率最高可达 114.8%;由于血液的样品量一般很少,因此使用 SPE 进行样品的前处理可以获得稳定的结果;Huang 等^[55]使用 3 mL Varian PH 的 SPE 小柱对脐带血中的 NP 进行萃取,回收率可达到 80%—115%。应用 SPE 萃取技术无论是样品量,还是有机溶剂量的使用均少于液-液萃取法,而且可以达到相似,甚至更高的回收效率,但是生物样品(如,尿液、血液)较容易造成 SPE 小柱的阻塞,造成洗脱时间延长,并由于溶剂的挥发影响最终目标分析物的浓度。

近些年,样品前处理方法越来越趋向于使用较少的有机溶剂、高通量以及与检测仪器连接实现自动化。固相微萃取技术(SPME)是一种以固相萃取法为基础发展而来的样品前处理技术,由 Waterloo 大学的 Pawliszyn^[56] 研究小组首次在 1989 年开发,是一种快速、简便、无需有机溶剂的样品处理方法,并且方便在样品基质中对待测物进行衍生化^[57]。目前,SPME 包括以下 3 种技术:直接萃取法^[56]、顶空萃取法^[58]和管内固相微萃取法。直接萃取法是将 SPME 纤维直接插到样品中,这种直接萃取方法一般用于挥发性较弱的分析物和较干净的液体样品;顶空萃取法是将 SPME 纤维插入到气态样品、液体样品或者固体样品上的气相部分,适用于挥发性较强的分析物,为使顶空萃取达到更好的效果,在萃取过程中可对样品进行适当的加热或搅拌,这种方法相较于直接萃取法,可以延长纤维的使用寿命。另外,管内固相微萃取法使用毛细管来进行萃取^[59],样品通过毛细管并与毛细管内壁充分接触,毛细管内壁涂有固定相,可以通过改变涂覆的固定相厚度来提高萃取的效率。对于 SPME 技术的自身装置而言,影响萃取效率的主要因素则是萃取头涂层的物理、化学性质以及涂层的厚度。一般涂料的选择基于相似相容的原理,主要的商用涂层材料包括聚二甲硅氧烷(PDMS),涂层厚度有 7、30、100 μm;85 μm 的聚丙烯酸酯(PA);65 μm 和 60 μm 的聚二甲基硅氧烷-聚乙烯苯(PDMS-DVB);75 μm 的 C-PDMS;65 μm 的聚乙二醇-DVB(CW-DVB);聚乙二醇-模板化树脂(CW-TPR)^[57,60]。张鹤小^[59]对常用的 3 种商用 SPME 萃取头即 CAR/PDMS、PDMS/DVB、PA 的富集效果进行了对比,结果表明 PA 萃取头对壬基酚的萃取效率较高,由于壬基酚为极性物质选用极性较强的 PA 作为萃取纤维,加标回收率可达到 91.9%—104.3%,RSD 为 0.89%。除萃取头涂层的选择外,影响 SPME 萃取效率的因素还包括样品 pH 值、含盐浓度、温度以及萃取时间,和 SPE 和 LLE 方法一样,加入适量的盐(NaCl、无水 Na₂SO₄)和调节 pH 值可以有效的提高萃取效率。但是对于 SPME 中直接萃取法来说,过度的调节 pH 值(pH ≤2 或者 pH ≥10)^[58]可能会对萃取纤维的涂层产生损害,所以在使用直接萃取法时 pH 值的调节受到一定的局限。Yang^[61]等为了更好的结合 GC-MS 检测鱼类血液中的 NP 和 OP,使用美国 Supelco 公司的 85 μm 的聚丙烯酸酯(PA)萃取纤维,利用 SPME 直接萃取技术完成 NP 和 OP 的萃取过程,通过优化萃取时间、温度、离子强度和 pH 等 4 个条件,可以使 NP 和 OP 的平均回收率分别达到 105% 和 98%。在生物样品的前处理中,SPME 的萃取时间是较为重要的一个条件,通常为 1—60 min 之间^[58],由于 SPME 的萃取是一个吸附或者吸收的平衡过程,可以通过搅拌、加热等方式来改变萃取时间,达到降低萃取时间,提高萃取效率的目的。

搅拌棒吸附萃取技术是在 1999 年被提出的^[62],该方法使用包裹有萃取涂层的搅拌子,通过顶空吸附萃取目标化合物,目前商品化搅拌子多使用二甲基硅氧烷(Polydimethylsiloxane, PDMS)作为涂

层^[49],一般涂敷的膜厚 0.5—1 mm.SBSE 多用于挥发性和半挥发性物质的前处理^[63],对于萃取复杂成分和极性物质具有一定的局限性^[64],但是该方法方便并且减少了大量有机溶剂的使用,也被广泛应用于样品前处理中.Kawaguchi 等^[44,49]利用 SBSE 方法处理含有 NP 和 OP 的葡萄糖苷结合物和硫酸酯结合物的酶解尿液,结果表明两种化合物的回收率可达到 100.0%和 99.7%.

1.1.2 蛋白沉淀技术

相较以上介绍的萃取技术的前处理方法,蛋白沉淀法由于具有快速、简单、经济等方面的优点^[65]一直被使用,并不断被改进发展.赵永纲等^[39]采用蛋白沉淀法对牛蛙全血样品进行预处理,仅需 100 μL 的样品,待加入 500 μL 含有 0.1%甲酸的甲醇溶液,涡旋离心后取上清液即可进行仪器分析,4-tOP 和 4-NP 的加标浓度为 1.0、10.0、50.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的回收率分别为 109.7%、108.5%、96.0%和 97.0%、92.9%、94.5%.该方法的关键在于沉淀剂的选择,常用的沉淀剂以甲醇和乙腈^[66-69]为主,有时需对沉淀后的样品进行进一步分离纯化,以减少内源性杂质的干扰,提高检测限.赵永纲等^[66]优化了之前使用 0.1% (V/V) 甲酸的甲醇溶液蛋白沉淀法,在经蛋白沉淀后的牛蛙全血样品加入自制的氨基功能化 Fe_3O_4 磁性高分子复合微粒(EDA-MPs),在外磁场的作用下对样品做进一步纯化,其中 4-tOP 和 4-NP 的加标浓度为 1.0、10.0、50.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的回收率分别为 110.0%、99.7%、102.8%和 100.0%、101.0%、100.8%,这样一种新的改进可以在一定程度上减少了前处理时间.对样品进一步提纯净化时也可以使用 SPE 技术,从而使基质的影响最小化.Asimakopoulos 等^[67]将蛋白沉淀法与 SPE 相结合 (Hybrid solid phase extraction-precipitation technology technique, Hybrid SPE-PPT),分别比较了甲醇、甲醇与甲酸铵、甲醇与甲酸、乙腈、乙腈结合甲醇和甲酸铵、乙腈结合甲醇和甲酸这 6 种配比的沉淀剂,结果表明 0.5% (V/V) 甲酸铵的甲醇溶液能够使人体血清中 4-tOP 和 4-NP 的回收率达到 80%—85%.由于生物样品中,尤其是血液样品,含有许多内源性的基质化合物^[20,65,68],样品基质的干扰使 MS 的响应信号受到影响^[66],蛋白沉淀能够很好地去除样品中的大分子物质,得到纯净的液体样品.虽然蛋白沉淀法相对于固相萃取方法而言,减少了对生物样品的预处理时间,但该方法在单独使用时准确性与灵敏度稍低^[27].

1.2 其他生物样品的 APs 前处理方法

国内外对于除尿样、血样之外的生物和食物样品中 APs 的检测均有报道,文中对已报道的鱼类的胆汁、母乳、动物肝脏、动物肌肉组织等生物样品中的 APs 的检测前的预处理方法做了简要叙述.胆汁样品的前处理相对于组织样品较为复杂,由于鱼类的胆汁具有很强的生物蓄积性,而胆汁是由肝脏产生,并可以将某些代谢产物从肝脏排出,因而在胆汁中这些物质 (APs) 通过积累作用可以达到一个较高的浓度^[70];由于在进行萃取之前必须将样品酶解,常利用的酶有 β -葡萄糖醛酸酶、 β -葡萄糖醛酸酶-芳香基硫酸酯酶、 β -葡萄糖苷和硫酸酯酶.胆汁的酶解与血液和尿液相比一般时间较长,Yang 等^[51]将胆汁加入磷酸盐缓冲液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下酶解 17—18 h,使用 200 mg Oasis HLB 的固相萃取小柱萃取样品中的 4-tOP、4-NP,加标回收率可达 94% $\pm$ 4%、100% $\pm$ 7%;Fenlon 等^[71]将胆汁样品置于 32 $^{\circ}\text{C}$ 条件下酶解 18 h,使用 Oasis HLB SPE (60 mg, Waters, Milford, MA) 小柱,洗脱剂为丙酮,NP 的加标平均回收率为 62.5% $\pm$ 3.0%至 86.4% $\pm$ 1.4%.母乳样品中 APs 的预处理方法与上述尿液、血液样品类似,由于样品量少,样品中目标待测物含量较低,较多采用 SPE 作为前处理方法^[53,55,86,89].

对于生物的肝脏及肌肉组织等,常用到的前处理技术还包括微波辅助萃取 (Microwave assisted extraction, MAE)、加速溶剂萃取 (Accelerated solvent extraction, ASE)、基质固相分散萃取 (Matrix solid-phase dispersion extraction, MSPD).

微波辅助萃取 (MAE) 是利用微波能加热来提高萃取效率的一种技术,热效率高,升温快速均匀,大大缩短了萃取时间,提高了萃取效率^[72].由于在微波场中不同物质对微波能的吸收程度不同,就使得萃取体系中的某些组分被选择性加热,从而达到较好的选择性的目的^[73];影响 MAE 萃取效率的主要因素是萃取溶剂的选择,萃取剂应该对基质中的目标化合物有较高的选择性.Pedersen 等^[40]使用 MAE 与 SPE 相结合提取了鱼体肝脏和鱼肉组织中的 4-tOP,使用 20 mL 二氯甲烷/甲醇 (2:1 V/V) 微波辅助萃取,平均加标回收率分别为 60%和 78%.相对于传统的 LLE 萃取方法而言,MAE 的萃取剂使用量较少,并且 MAE 的萃取效率并不与萃取剂的使用量成正比,萃取剂的选择一般与样品的种类有关,萃取剂的使用量由样品量多少而定,通常需要浸没样品;其次,生物样品基质自身带有水分,样品的含水率对

MAE 萃取效率有很大的影响;在应用中发现,溶剂对微波的吸收与溶剂的极性成正比,由于水的极性较强,通常会导致萃取回收率的重现性较差^[74];目前鲜有将 MAE 萃取技术应用于生物样品中 APs 的处理,该技术多用于干燥后的自然土壤、污泥等环境固体样品中 APs 的处理。

加速溶剂萃取(ASE)是一种从固体和半固体基质中提取目标待测物的样品萃取技术。使用配备的萃取池,通过控制萃取过程中的压力与温度来提高待测物的溶解性,加快解吸动力学,降低溶剂黏度,加速溶剂向基体中的扩散,从而提高萃取过程的速度和效率^[29,75];它具有操作简单、萃取效率高、萃取时间短、回收率高、重现性好、对环境二次污染小等优点^[30]。影响 ASE 萃取效率的因素包括温度、压力、萃取剂的配比和样品基质,温度与压力的相互协调非常重要,较高的温度有利于目标分析物的溶解和传质,采用高压通常是为了保持溶剂处于液体状态;对于萃取溶剂的选择,常用的有甲醇、水、丙酮、二氯甲烷、乙酸乙酯、乙腈等^[76],它们的沸点、极性以及密度对整个萃取效率都会产生影响。Shao 等^[77]在检测肌肉组织中 APs 含量时,应用 ASE 对样品进行预处理,比较了萃取剂二氯甲烷、丙酮、甲醇和甲醇/二氯甲烷(15:85 V/V)对萃取效率的影响,回收率分别为 78%—91%、24%—55%、24%—69% 和 71%—89%。Tavazzi 等^[42]利用加速溶剂萃取法,使用 1:1 比例的丙酮和正己烷作为萃取剂,萃取鱼体肝脏中 4-NP,回收率可达 98%。

固相分散萃取(MSPD)技术是 Barker^[78]在 1989 年检测动物组织中残留农药时报道的,是一种将目标分析物从固体或半固体样品中分离的萃取方法。MSPD 的传统操作方法是将动物组织与亲脂性固体填充材料混合于研钵中,磨碎并混合均匀后装入类似 SPE 柱的针管中,再用洗脱液将目标物质洗脱出来^[79],与传统 SPE 萃取方法相比,MSPD 可以将固体样品均匀的放入小柱中,减少了样品均质等前处理过程。影响 MSPD 萃取效率的主要因素包括固体载体的选择、样品预载体间的混合比例以及洗脱剂的选择,对于生物组织样品,选用亲脂性的固体载体有利于组织样品的分散与均匀,通常使用 C18-bonded silica 和 C8-bonded silica^[79-80]。近年来,应用 MSPD 方法萃取生物组织、肝脏等样品中 APs 的报道较少,Shao^[81]等采用 MSPD 萃取鸡蛋和牛奶中的 NP 和 OP,比较 C18-bonded silica 与石墨炭黑(GCB)两种固体载体的效果,结果表明 GCB 对极性物质 NP 和 OP 可以产生较强的吸附性而不易被洗脱,而非极性 C18-bonded silica 的混合载体,洗脱液为甲醇,回收率可达到 85%以上。

1.3 APs 的主要检测方法

由于 APs 挥发性较差,在不对物质进行衍生化的条件下适合用液相色谱法进行分析,多采用 C18 和 C8 柱,流动相一般为甲醇/水、乙腈/水等^[82-83]。

与液相色谱相比,GC-MS 是目前常用于烷基酚类物质检测的方法,具有检测限低和灵敏度高等特点。因为烷基酚类物质挥发性较低,所以对预处理后的样品直接使用该检测方法会影响分析的灵敏度,因此将这类物质进行衍生化就很有必要。常用的衍生化技术有硅烷基化、乙酰基化等,但用于 GC-MS 衍生剂大都是具有高毒性的,包括了三氟乙酸酐(TFAA)、三氟乙酰胺(BSTFA)、三甲基甲硅烷基三氟乙酰胺(MSTFA)等^[37,84]。Kuklenyik 等^[8]利用自动固相萃取-衍生法结合 GC-MS,同时测定了 6 种烷基酚和 BPA,其中,nNP 和 nOP 的检测线 $<0.1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,tOP、4tBP 和 3tBP 的检测线为 $0.2\text{—}0.7 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间。

与 GC-MS 相比,LC-MS 也具有灵敏度高、检测线低的特点,且不需要对待测物质进行衍生化,也常被用来检测生物样品中 OP、NP 等烷基酚类物质。通常利用 LC-MS 的电喷雾离子化接头(ESI)分析样品,但由于生物样品基质较为复杂,有时会影响离子化效应,降低检测的重现性,而使用大气压力化学电离源(APCI),虽可以降低基质对检测结果的影响,但是检测限会有所提高。Xiao^[37]等使用固相萃取法结合 LC-MS 同时测定 BPA、NP、OP,检测限 LOD 分别为 0.10、0.10、0.15 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

除了这些常见的色谱法之外,也可以利用生物技术对烷基酚类物质进行检测,生物技术的方法具有检测快速、操作简单、检测成本低等特点。杜志辉等^[85]制备的 NP 的免疫层析快速检测试纸条,检测限可以达到 $4.4\text{—}2.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2 结语与展望

烷基酚类化合物具有较强的生物活性,痕量暴露水平就会对生物产生内分泌干扰效应,对敏感生物种群带来极大威胁。因此,需要一些准确可靠的方法来检测该类存在于生物样品中的微量化合物。

表 1 烷基酚类物质的主要检测方法
Table 1 Common the detection methods of APs

检测技术	检测物质	检测限	样品基质	参考文献
HPLC	NP	LOD _{NP} :13 ng·mL ⁻¹	大鼠血清	[25]
HPLC-FL	NP、OP	LOD _{NP} :4.9 ng·mL ⁻¹ LOD _{OP} :7.5 ng·mL ⁻¹	人类尿液	[30]
LC-FLD	NP	LOD _{NP} :1.87 ng·mL ⁻¹	人类母乳、血浆、胎盘	[54]
GC-MS	3-tBP、4-tBP、 4-tOP、4-nOP、 NP	LOD _{3-tBP} :0.2 ng·mL ⁻¹ LOD _{4-tBP} :0.4 ng·mL ⁻¹ LOD _{4-tOP} :0.7 ng·mL ⁻¹ LOD _{4-nOP} :0.1 ng·mL ⁻¹ LOD _{NP} :0.1 ng·mL ⁻¹	人类尿液	[7]
	NP、4-tOP	LOQ _{NP} :1.1 ng·mL ⁻¹ LOQ _{4-tOP} :0.1 ng·mL ⁻¹ LOD _{NP} :0.22 ng·mL ⁻¹ LOD _{4-tOP} :0.02 ng·mL ⁻¹	人类尿液	[5]
	NP	LOQ _{NP} :1.1 ng·mL ⁻¹ LOD _{NP} :0.2 ng·mL ⁻¹	人类尿液	[48]
	NP、4-tOP	LOQ _{NP} :9.5 ng·g ⁻¹ LOQ _{4-tOP} :1.1 ng·g ⁻¹	鱼类胆汁	[50]
	NP、4-tOP	LOQ _{NP} :1.2 ng·g ⁻¹ LOQ _{4-tOP} :0.2 ng·g ⁻¹ LOD _{NP} :0.3 ng·g ⁻¹ LOD _{4-tOP} :0.01 ng·g ⁻¹	人类母乳	[52]
	NP	LOD _{NP} :60.2 ng·mL ⁻¹	鱼类胆汁	[70]
	NP、4-tOP	LOQ _{NP} :1.2 ng·g ⁻¹ LOQ _{4-tOP} :0.2 ng·g ⁻¹	人类母乳	[85]
	NP、4-tOP	LOQ _{NP} :0.2 ng·mL ⁻¹ LOQ _{4-tOP} :0.02 ng·mL ⁻¹ LOD _{NP} :0.04 ng·mL ⁻¹ LOD _{4-tOP} :0.004 ng·mL ⁻¹	人类尿液、血清	[86]
	NP、OP	LOD _{NP} :0.10 ng·mL ⁻¹ LOD _{OP} :0.15 ng·mL ⁻¹	人类尿液	[36\]
	NP、4-tOP	LOD _{NP} :20 ng·g ⁻¹ LOD _{4-tOP} :5 ng·g ⁻¹	鱼类肝脏	[41]
LC-MS(ESI)	NP、OP	LOQ _{NP} :0.3 ng·mL ⁻¹ LOQ _{OP} :0.3 ng·mL ⁻¹	人类尿液	[87]
	4-tOP	LOQ _{4-tOP} :10 ng·g ⁻¹ (肌肉) LOQ _{4-tOP} :50 ng·g ⁻¹ (肝脏)	鱼类肌肉、肝脏组织	[39]
LC-MS(APCI)	4-tOP	LOD _{4-tOP} :2.55 ng·mL ⁻¹	人类母乳	[88]
	NP、4-tOP	LOQ _{NP} :0.25 μg·L ⁻¹ LOQ _{4-tOP} :0.46 μg·L ⁻¹ LOD _{NP} :0.08 μg·L ⁻¹ LOD _{4-tOP} :0.15 μg·L ⁻¹	牛蛙全血	[38]

对于生物样品中 APs 的检测,样品前处理需要达到快速、可靠的分离 APs,但是对分析检测而言依旧存在较大问题.目前对生物基质的前处理有各种不同的方法,由于 SPE 方法易于操作、溶剂使用量少、处理样品干净、可以与检测设备连接实现在线检测等优点,依然是用于生物基质前处理的主要方法.目前,以 SPE 为原型发展而来的 SPME 与 MSPD 对于生物基质的处理拥有较好的前景,对于尿样和血样,使用 SPME 具有优势,尤其与 GC 联用,可以大大减少衍生化所消耗的时间;而 MSPD 的固体填料相对

SPE 而言有更多的选择,可以处理不同形态的生物样品,因而开发选择性更好的吸附剂材料也成为生物样品前处理研究的一个重要方向.此外,快速的预处理以及与检测设备连接组成在线检测系统已经成为趋势,开发出 MSPD 与检测设备连接的新型在线检测技术将成为生物样品分析检测的研究方向.在仪器分析方面,具有抗基质干扰、准确定量且无需衍生目标物的 LC-MS 技术将日益成为分析烷基酚类化合物的重要技术.

随着环境污染问题的关注度逐渐提高,环境内分泌干扰物对人们的健康影响也越来越受到重视.将样品前处理过程进一步简化,开发和研究生物样品中烷基酚类内分泌干扰物的新型检测方法,可以为该类物质的健康风险评价提供可靠的技术支持.

参 考 文 献

- [1] Bredhult C, Bäcklin B M, Olovsson M. Effects of some endocrine disruptors on the proliferation and viability of human endometrial endothelial cells in vitro[J]. *Reproductive Toxicology*, 2007, 23(4):550-559
- [2] Murray T J, Lea R G, Abramovich D R, et al. Endocrine disrupting chemicals: effects on human male reproductive health[J]. *Early pregnancy*, 2001, 2(5):80-112
- [3] Chen Y J, Cheng F X, Sun L, et al. Computational models to predict endocrine-disrupting chemical binding with androgen or oestrogen receptors[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 110:280-287
- [4] 严炜, 林金明. 雌激素类内分泌干扰物的液相色谱-质谱分析样品前处理方法[J]. *分析化学*, 2010, 38(4):598-606
- [5] 林福华, 邱宁宁, 黄晓佳, 等. 搅拌棒固相萃取与液相色谱联用测定水样品中烷基酚类污染物[J]. *分析化学*, 2010, 01:67-71
- [6] Kawaguchi M, Ito R, Sakui N, et al. Stir-bar-sorptive extraction, with in-situ deconjugation, and thermal desorption with in-tube silylation, followed by gas chromatography-mass spectrometry for measurement of urinary 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol glucuronides[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 388:391-398
- [7] Li X, Ying G G, Zhao J L, et al. 4-Nonylphenol, bisphenol-A and triclosan levels in human urine of children and students in China, and the effects of drinking these bottled materials on the levels[J]. *Environment International*, 2013, 52:81-86
- [8] Kuklenyik Z, Ekong J, Cutchins C D, et al. Simultaneous measurement of urinary bisphenol a and alkylphenols by automated solid-phase extractive derivatization gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75:6820-6825
- [9] Chen R, Yin P, Zhao L, et al. Spatial-temporal distribution and potential ecological risk assessment of nonylphenol and octylphenol in riverine outlets of Pearl River Delta, China[J]. *Journal of environmental sciences*, 2014, 26:2340-2347
- [10] Cespedes R., Lacorte S., Ginégre A, et al. Occurrence and fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates in sewage treatment plants and impact on receiving waters along the Ter River (Catalonia, NE Spain). *Environmental Pollution*, 2008, 153:384-392
- [11] Zgoła-Grzes'kowiak A, Grzes'kowiak T, Rydlichowski R, et al. Determination of nonylphenol and short-chained nonylphenol ethoxylates in drain water from an agricultural area[J]. *Chemosphere*, 2009, 75:513-518
- [12] Brix R, Postigo C, González S, et al. Analysis and occurrence of alkylphenolic compounds and estrogens in a European river basin and an evaluation of their importance as priority pollutants[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 396:1301-1309
- [13] Salgueiro-González N, Turnes-Carou I, Muniategui-Lorenzo S, et al. Membrane assisted solvent extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry applied to the analysis of alkylphenols in water samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1281:46-53
- [14] 侯绍刚, 徐建, 汪磊, 等. 黄河(兰州段)水环境中壬基酚及壬基酚聚氧乙烯醚污染的初步研究[J]. *环境化学*, 2005, 24(3):250-253
- [15] 丁洁, 张圣虎, 刘济宁, 等. 液相色谱-串联质谱法测定污水处理厂水样中双酚 A、四溴双酚 A 及烷基酚类化合物[J]. *色谱*, 2014, 32(5):529-534
- [16] Guenther K, Heinke V, Thiele B, et al. Endocrine disrupting nonylphenols are ubiquitous in food[J]. *Environmental Science and Technology*, 2002, 36:1676-1680
- [17] Lu Y Y, Chen M L, Sung F C, et al. Daily intake of 4-nonylphenol in Taiwanese. *Environment International*, 2007, 33:903-910
- [18] Brock J W, Yoshimura Y, Barr J R. Measurement of bisphenol A levels in human urine[J]. *Journal of Exposure Analysis and Environment Epidemiology*, 2001, 11:323-328
- [19] Shangri N, Chan T S, Peter J, et al. Sulfation and glucuronidation of phenols: Implications in coenzyme metabolism[J]. *Methods in Enzymology*, 2005, 400:342-359
- [20] Del Olmo M, Zafra A, Suarez B, et al. Use of solid-Phase microextraction followed by on-column silylation for determining chlorinated bisphenol A in human Plasma by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2005, 817(2):167-172
- [21] Ye X Y, Kuklenyik Z, Larry L, et al. Quantification of urinary conjugates of bisphenol A, 2, 5-dichlorophenol, and 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone in humans by online solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Biochemistry*, 2005, 383:638-644
- [22] Genus S J, Beesoon S, Birkholz D, et al. Human excretion of bisphenol a: blood, urine, and sweat (BUS) study[J]. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012, 1-10

- [23] Schoringhumer K, Cichna-Marki M. Sample clean-up with sol-gel enzyme and immunoaffinity columns for the determination of bisphenol A in human urine[J]. *Journal of Chromatography B*, 2007, 850:361-369
- [24] Kuroda N, Kinoshita Y, Sun Y, et al. Measurement of bisphenol A levels in human blood serum and ascitic fluid by HPLC using a fluorescent labeling reagent[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 30(6):1743-1749
- [25] 郑力行, 石峻岭, 周志俊. 高效液相色谱法测定血清中的双酚 A[J]. *中华预防医学杂志*, 2003, 37(6):450-451
- [26] 肖全伟, 黎源倩, 张浩, 等. 高效液相色谱法测定大鼠血清中 4-壬基酚和双酚 A[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2004, 35(2):271-273
- [27] 郭志磊, 范捷. 固相萃取和蛋白沉淀法在高效液相色谱法测定万古霉素血药浓度中的比较[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(9):745-747
- [28] 吴同俊, 郑力行, 吴强恩, 等. 酶水解-高效液相色谱法测定人血清中双酚 A[J]. *中国工业医学杂志*, 2006, 19(2):70-73
- [29] Abend A M, Chung L, McCollum D G, et al. Development and validation of an automated extraction method (accelerated solvent extraction and a reverse-phase HPLC analysis method for assay of ivermectin in a meat-based chewable formulation[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 31(6):1177-1183
- [30] 徐振东, 顾娟红, 黄丽娟, 等. 加速溶剂萃取-快速液相色谱法测定纺织品中烷基苯酚和烷基苯酚聚氧乙烯醚[J]. *分析试验室*, 2012, 31(8):112-115
- [31] 肖晶, 邵兵, 吴永宁, 等. HPLC-FL 法检测尿液中类雌激素双酚 A 和烷基酚[J]. *中国食品卫生杂志*, 2008, 20(2):111-113
- [32] Shin B S, Park K L, Han S Y, et al. Sensitive micro-sample analysis of bisphenol A in serum by high-performance liquid chromatography with fluorescence Detection[J]. *Chromatographia*, 2001, 53:669-672
- [33] Jonkers N, Knepper T P, de Voogt P. Aerobic biodegradation studies of nonylphenol ethoxylates in river water using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35:335-340
- [34] Salgueiro-González N, Turnes-Carou I, Muniategui-Lorenzo S, et al. Membrane assisted solvent extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry applied to the analysis of alkylphenols in water samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1281:46-53
- [35] Ye X Y, Kuklenyik Z, Larry L, et al. Quantification of urinary conjugates of bisphenol A, 2, 5-dichlorophenol, and 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone in humans by online solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Biochemistry*, 2005, 383:638-644
- [36] 夏同伟, 刘良坡, 张文静, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定人尿液中 5 种酚类内分泌干扰物[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(2):211-217
- [37] Xiao J, Shao B, Wu X Y, et al. A Study on bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol in human urine amples detected by SPE-UPLC-MS[J]. *Biomed Environ Sci*, 2011, 24(1):40-46
- [38] 鲍惠惠, 盛杰, 许媛媛, 等. 血清中游离型双酚 A 的固相萃取-同位素内标-高效液相色谱串联质谱测定法[J]. *环境与健康杂志*, 2014, 31(1):44-46
- [39] 赵永纲, 陈晓红, 范建中. 超快速液相色谱-串联质谱法测定牛蛙全血中 3 种酚类环境雌激素[J]. *中国卫生检验*, 2012, 22(9):2007-2010
- [40] Pedersen S N, Lindholm C. Quantification of the xenoestrogens 4-tert-octylphenol and bisphenol A in water and in fish tissue based on microwave assisted extraction, solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 1999, 864(1):17-24
- [41] Choi J-H, Lamshoft M, Zuhlke S, et al. Determination of sedatives and adrenergic blockers in blood meal using accelerated solvent extraction and Orbitrap mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1260:111-119
- [42] Tavazzil S, Benfenati E, Barcelo D. Accelerated solvent extraction then liquid chromatography coupled with mass spectrometry for determination of 4-t-Octylphenol, 4-Nonylphenols, and bisphenol A in fish liver[J]. *Chromatographia*, 2002, 56:463-467
- [43] Kuklenyik Z, Ekong J, Cutchins C D, et al. Simultaneous measurement of urinary bisphenol A and alkylphenols by automated solid-phase extractive derivatization gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75:6820-6825
- [44] Kawaguchi M, Ito R, Sakui N, et al. Stir-bar-sorptive extraction, with in-situ deconjugation, and thermal desorption with in-tube silylation, followed by gas chromatography-mass spectrometry for measurement of urinary 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol glucuronides[J]. *Analytical Biochemistry*, 2007, 388:391-398
- [45] Del Olmo M, Zafra A, Suarez B, et al. Use of solid-Phase microextraction followed by on-column silylation for determining chlorinated bisphenol A in human Plasma by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2005, 817(2):167-172
- [46] 吴鸳鸯, 施卫星, 陈枢青. GC/MS 同时检测人体尿液中 β -雌二醇、双酚 A、己烯雌酚和沙丁胺醇的含量[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2009, 38(2):235-241.
- [47] Mao L S, Sun C J, Zhang H, et al. Determination of environmental estrogens in human urine by high performance liquid chromatography after flurescent derivatization with p-nitrobenzoyl chloride[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 522(2):241-246
- [48] 张宏, 毛炯, 孙成均, 等. 气相色谱-质谱法测定尿及河底泥中的环境雌激素[J]. *色谱*, 2003, 21(5):451-455
- [49] Kawaguchi M, Ito R, Hayastu Y, et al. Stir bar sorptive extraction with in situ de-conjugation and thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry for measurement of 4-nonylphenol glucuronide in human urine sample[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2006, 40(1):82-87

- [50] Kawaguchia M, Inouea K, Yoshimura M, et al. Determination of 4-nonylphenol and 4-tert.-octylphenol in water samples by stir barsorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 505(2): 217-222
- [51] Yang J, Li H Y, Ran Y, et al. Distribution and bioconcentration of endocrine disrupting chemicals in surface water and fish bile of the Pearl River Delta, South China[J]. *Chemosphere*, 2014, 107: 439-446
- [52] 王世玉, 刘菲, 吴文勇, 等. 影响 12 种壬基酚同分异构体液液萃取效率的因素研究[J]. *岩矿测试*, 2014, 33(4): 570-577
- [53] Chen G W, Ding W H, Ku H Y, et al. Alkylphenols in human milk and their relations to dietary habits in central Taiwan[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48: 1939-1944
- [54] Pirard C, Sagot C, Deville M, et al. Urinary levels of bisphenol A, triclosan and 4-nonyphenol in a general Belgian population[J]. *Environmental International*, 2012, 48: 78-83
- [55] Huang Y F, Wang P W, Huang L W, et al. Nonylphenol in pregnant women and their matching fetuses: Placental transfer and potential risks of infants[J]. *Environmental Research*, 2014, 134: 143-148
- [56] Belardi R P, Pawliszyn J. The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns[J]. *Water Pollut Res J Can*, 1989, 24: 179-191
- [57] Kataoka H, Saito K. Recent advances in SPME techniques in biomedical analysis[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011, 54(5): 926-950
- [58] Theodoridis G, Koster E H M, Jong G J. Solid-phase microextraction for the analysis of biological samples[J]. *Journal of Chromatography B*, 2000, 745(1): 49-82
- [59] 张鹤小. 固相微萃取高效液相色谱法测定工业污水中酚类环境激素[D]. 沈阳: 沈阳师范大学硕士学位论文, 2013
- [60] Queriros M E C, Melo L P. Selective capillary coating materials for in-tube solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography to determine drugs and biomarkers in biological samples: A review[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2014, 826: 1-11
- [61] Yang L H, Luan T G, Lan C Y. Solid-phase microextraction with on-fiber silylation for simultaneous determinations of endocrine disrupting chemicals and steroid hormones by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1104(1/2): 23-32.
- [62] Baltussen E, Sandra P, David F, et al. Stir-bar sorptive extraction (SBSE), A novel extraction technique for aqueous sample theory and principles[J]. *Journal of Microcolumn Separations*, 1999, 11(10): 737-7471
- [63] Kawaguchia M, Inouea K, Yoshimura M, et al. Determination of 4-nonylphenol and 4-tert.-octylphenol in water samples by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 505(2): 217-222
- [64] Nogueira J M F. Novel sorption-based methodologies for static microextraction analysis: A review on SBSE and related techniques[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 757: 1-10
- [65] Zeng W, Xu Y, Constanzer M, et al. Determination of sitagliptinin human plasma using protein precipitation and tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B*, 2010, 878(21): 1817-1823
- [66] 赵永纲, 陈晓红, 姚姗姗, 等. 分散固相萃取-超快速液相色谱-串联质谱法测定牛蛙全血中 6 种酚类环境雌激素[J]. *色谱*, 2012, 30(7): 665-671
- [67] Asimakopoulos A G, Thomaidis N S. Bisphenol A, 4-t-octylphenol, and 4-nonylphenol determination in serum by Hybrid Solid Phase Extraction-Precipitation Technology technique tailored to liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2015, 986-987: 85-93
- [68] Casas M E, Hansen M, Krogh K A, et al. Analytical sample preparation strategies for determination of antimalarial drugs in human whole blood, plasma and urine[J]. *Journal of Chromatography B*, 2014, 962(1): 109-131
- [69] Pucci V, Palma S D, Alfieri A, et al. A novel strategy for reducing phospholipids-based matrix effect in LC-ESI-MS bioanalysis by means of HybridSPE[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2009, 50(5): 867-871
- [70] 吴明红, 潘辰苑, 杨明, 等. 鱼体胆汁中壬基酚和双酚 A 的分析方法[J]. *上海大学学报*, 2013, 19(4): 423-428
- [71] Fenlon K A, Johnson A C, Tyler C R et al. Gas-liquid chromatography-tandem mass spectrometry methodology for the quantitation of estrogenic contaminants in bile of fish exposed to wastewater treatment works effluents and from wild populations[J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217: 112-118
- [72] 卢彦芳, 张福成, 安静, 等. 微波辅助萃取应用研究进展[J]. *分析科学学报*, 2011, 27(2): 246-252
- [73] Leufroy A, Noel L, Dufailly V, et al. Determination of seven arsenic species in seafood by ion exchange chromatography coupled to inductively coupled plasma-mass spectrometry following microwave assisted extraction: Method validation and occurrence data[J]. *Talanta*, 2011, 83(5): 770-779
- [74] Prado L S, Jares C G, Llopart M. Microwave-assisted extraction: Application to the determination of emerging pollutants in solid samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(16): 2390-2414
- [75] Choi J H, Lamshoft M, Zuhlke S, et al. Determination of sedatives and adrenergic blockers in blood meal using accelerated solvent extraction and Orbitrap mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1260: 111-119
- [76] Sun H W, Ge X H, Lv Y K, et al. Application of accelerated solvent extraction in analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1237(11): 1-23
- [77] Shao B, Han H, Li D M, et al. Analysis of alkylphenol and bisphenol A in meat by accelerated solvent extraction and liquid chromatography

- with tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2007,105(3):1236-1241
- [78] Barker S A, Long A R, Short C R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion[J]. Journal of Chromatography A, 1989, 475(2):353-361
- [79] Barker S A. Matrix solid phase dispersion (MSPD)[J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2007,70(2):151-162
- [80] Capriotti A L, Cavaliere C, Giansanti P, et al. Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction [J]. Journal of Chromatography A, 2010,1217(16):2521-2532
- [81] Shao B, Han H, Tu X M, et al. Analysis of alkylphenol and bisphenol A in eggs and milk by matrix solid phase dispersion extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2007,805(1/2):412-416
- [82] Niki, Maragou, Eugenia, et al. Determination of bisphenol A in milk by solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2006,1129(2):165-173
- [83] Rice, Afonso S, Rosale L, et al. Alkylphenol and alkylphenol-ethoxylates in carp, water and sediment from the Cuyahoga River, Ohio[J]. Environmental Science & Technology, 2003,37(17):3747-3754
- [84] Ferrara, Ademollo, Orr, et al. Alkylphenols in adipose tissues of Italian population[J]. Chemosphere, 2011,82(7):1044-1049
- [85] 杜志辉, 李森林, 高志贤, 等. 壬基酚免疫层析快速检测试纸条的研制[J]. 解放军预防医学, 2007,25(4):238-241
- [86] Lina W C, Wang S L, Cheng C Y, et al. Determination of alkylphenol residues in breast and commercial milk by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2009,114:753-757
- [87] Kawaguchia M, Inoue K, Sakui N, et al. Stir bar sorptive extraction and thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry for the measurement of 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol in human biological samples[J]. Journal of Chromatography B, 2004,799:119-125
- [88] Inoue K, Kawaguchi M, Okada F, et al. Measurement of 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol in human urine by column-switching liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2003,486:41-50
- [89] Ye X Y, Kuklenyik Z, Larry L, et al. Measuring environmental phenols and chlorinated organic chemicals in breast milk using automated on-line column-switching-high performance liquid chromatography-isotope dilution tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2006,831:110-115