

高效液相色谱测定啤酒瓶盖内衬垫 DEHP 的含量

费斐, 李亚玲, 张坤, 陈强, 李玉玲

(北京印刷学院印刷包装材料与技术北京市重点实验室, 北京 102600)

摘要:建立了高效液相色谱测定啤酒瓶盖内衬垫中邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)含量的方法。通过改变样品的前处理方法及检测的色谱条件,以保留时间来定性,外标法来定量,对实验结果进行优化。实验得到:样品在经过无水乙醇浸泡处理,流动相甲醇与水的体积比为 95:5,紫外检测器检测波长为 275 nm 时,能获得的分离效果最佳;在该分析条件下,DEHP 标准曲线呈现很好的线性关系,相关系数均大于 0.998,精密度 $RSD < 1.5\%$,DEHP 在无水乙醇中浸泡的溶出量为 24.45%,在 95% 甲醇中浸泡的溶出量为 15.97%。

关键词: 高效液相色谱; 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯; 啤酒瓶盖内衬垫

中图分类号: TB487; TB484.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2011)05-0032-04

Determination of Diethylhexyl Phthalate in Inner Liner of Beer Bottle by High Performance Liquid Chromatography

FEI Fei, LI Ya-ling, ZHANG Kun, CHEN Qiang, LI Yu-ling

(Key Laboratory of Printing and Packaging Materials and Technology, Beijing Institute of Graphic Communication, Beijing 102600, China)

Abstract: A method of diethylhexyl phthalate quantitative analysis in inner liner of beer bottle by high performance liquid chromatography (HPLC) was established. The results were optimized by sample pre-treatment and the variation of chromatographic detection conditions. The retention time of peak was qualitatively employed to evaluate the results, and the ex-situ measurement was used to analyze quantitatively. When samples were extracted by soaking in ethanol solution, methanol: water = 95:5 (volume/volume) was as mobile phase, and scanned with SPDM detector at 275 nm, the optimal separation phases was obtained. The results showed that standard curve of DEHP has good linearity with the correlation coefficient r^2 higher than 0.998 and the precision was lower than 1.5%. It was confirmed that DEHP immigrates from the inner liner of beer bottle, the concentrations reach to 24.45% in ethanol solution, and 15.97% in 95% methanol solution.

Key words: HPLC; diethylhexyl phthalate; inner liner of beer bottle

邻苯二甲酸酯(PAEs)作为一种增塑剂,广泛应用于聚氯乙烯塑料、纤维素薄膜涂料和粘合剂中^[1]。DEHP 因具有良好的稳定性、流变性和较低的挥发性,在 PAEs 中使用量最大。DEHP 作为增塑剂与塑料基质间没有形成化学共价键,呈游离态,当接触到所包装食品中水、油脂等时,极易溶出,是一种无处不在的环境污染物^[2]。DEHP 毒性是众所周知的,它对动物和人均有慢性中毒、致突变、致癌等作用^[3],同时添加剂的迁移与溶出后,反过来会对包装材料本身的

物理机械性能产生影响^[4]。

PAEs 化学分析测定方法主要有:气相色谱法(GC)、液相色谱法(LC)、红外光谱法(IR)、核磁共振法(NMR)和薄层色谱法(TLC)^[5]。笔者采用高效液相色谱法(HPLC)对啤酒瓶盖内衬垫中 DEHP 含量进行测量。通过将啤酒瓶盖内衬垫分别浸泡在 95% (体积分数,下同)甲醇和乙醇溶液中,来萃取增塑剂 DEHP,采用 HPLC 对它进行定性和定量的检测。在实验中确定了 DEHP 标准样品的相关参数:在 5~

收稿日期: 2010-10-08

基金项目: 北京市教育委员会资助项目(KM201010015006)

作者简介: 费斐(1987—),女,江苏人,北京印刷学院硕士生,主攻食品包装材料的安全性。

通讯作者: 李亚玲(1975—),女,北京人,北京印刷学院助理研究员,主要从事纳米材料的制备和仪器分析。

1000 mg/L 的质量浓度范围内其质量浓度和峰面积有良好的线性相关性,其线性回归方程为 $Y = 4681.88 + 1785.22X$, 相关系数 r^2 为 0.9995, 精密度范围为 0.16%~0.35%, 回收率为 95%~110%。

1 试验

1.1 材料

甲醇(HPLC 级, Scharlau 公司)、无水乙醇(分析醇)、超纯水(娃哈哈纯净水)。

6 种 PAEs 标准储备液(邻苯二甲酸丁苄酯(BBP)、邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二正辛酯(DnOP)、邻苯二甲酸(2-乙基己基)酯(DEHP), 浓度为 0.2 mg/mL, Dikma 公司), DEHP 标准储备液(纯度>99.7%, Sigma-Aldrich 公司), 并由甲醇稀释至 1~1000 mg/L 的浓度级, 在 4℃ 下冷藏待用。溶液进样前先经过 0.45 μm 的尼龙过滤膜过滤。

1.2 仪器

岛津 LC-10Avp 液相色谱仪, 配有 2 个串联泵, SIL-HTC 自动进样器, DGU-14AM 脱气机, CTO-10ASvp 柱温箱和 SPD-M10Avp 检测器, Akasil C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 由 Class-VP 软件采集和处理数据; 精密天平(AY120, SHIMADZU)。

在试验中所有用到的玻璃仪器都被乙醇彻底清洗, 并自然风干。

1.3 样品前处理

称取一定量的啤酒瓶盖内衬垫, 剪成碎片后放入 50 mL 95% 的色谱级纯甲醇(或无水乙醇)中浸泡, 浸泡时间为 2 d, 再通过 0.45 μm 的尼龙滤膜过滤至 1.5 mL 的样品瓶中, 待用。

1.4 色谱条件的优化

针对邻苯二甲酸酯的特征吸收峰为 275 nm, 选择 275 nm 作为紫外检测波长。流动相总流速为 1.0 mL/min, 柱温箱温度为 30℃, 进样量为 10 μL 。

对 6 种 PAEs 标准储备液采用水-甲醇为流动相, 分别对样品进行不同色谱条件下的等度洗脱。根据文献报道^[6], 在这 6 种 PAEs 物质中, 出峰的先后顺序分别为 DMP, DEP, BBP, DBP, DEHP, DnOP。实验表明, 当流动相中甲醇的体积比例在 95% 以上时, 6 种 PAEs 有较短的保留时间, 能在 15 min 内完

成分离, 但其中 DMP 和 DEP, BBP 和 DBP 不能被分离, 而 DEHP 和 DnOP 分离效果较好。当流动相比例小于 95% 时, 前 4 种物质能够很好地分离, 但因为 DEHP 和 DnOP 保留时间较长, 在 40 min 内都没有出峰, 不利于检测。

流动相体积比为甲醇/水=95/5 条件下得到的 6 种标样的色谱图见图 1。

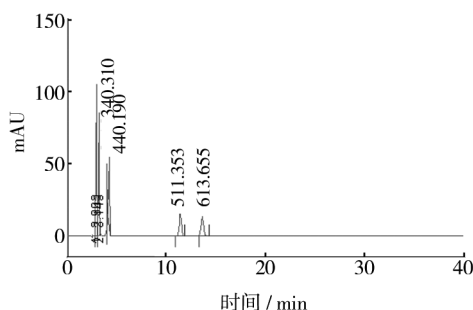


图 1 6 种 PAEs 标准储备液的色谱图
Fig. 1 Chromatogram of the standard solution of six kinds of phthalate esters

2 结果与讨论

2.1 啤酒瓶盖内衬垫中的溶出物 DEHP 的确定

根据上述 2 种样品前处理方式, 对得到的待测液进样检测。为保证在 15 min 内能完全分离, 首先尝试以 95:5(甲醇/水体积比)作为流动相进行等度洗脱实验。结果表明, 啤酒瓶盖内衬垫在甲醇(95%)和无水乙醇中的溶出物仅为一种邻苯二甲酸酯, 见图 2a。对比图 1, 可以初步判定这种邻苯二甲酸酯为 DEHP。为进一步确定实验结果, 得到了 1 g/L 的 DEHP 标准样品的色谱图, 其中啤酒瓶盖内衬垫中的溶出物与 DEHP 标准储备液的保留时间分别为 11.099 min 和 11.092 min。据此, 可以判定这种溶出物为 DEHP。

2.2 啤酒瓶盖内 DEHP 溶出量的确定

将 1 g/L 的 DEHP 标准储备液稀释成不同浓度的系列标准溶液, 均取 10 μL 进样, 进行 PDA 检测, 得到 DEHP 的最低检出限为 3 mg/L, 定量限为 10 mg/L。同时以峰面积相对质量浓度作回归方程, 结果见图 3, 在 0.005~1.000 g/L 浓度范围内, 其色谱峰峰面积相对质量浓度有良好的线性关系, 且线性范围较宽, 其工作曲线为 $Y = 4681.88 + 1785.22X$, 其中 Y 为峰面积, X 为 DEHP 的质量浓度, 相关系数 $r^2 =$

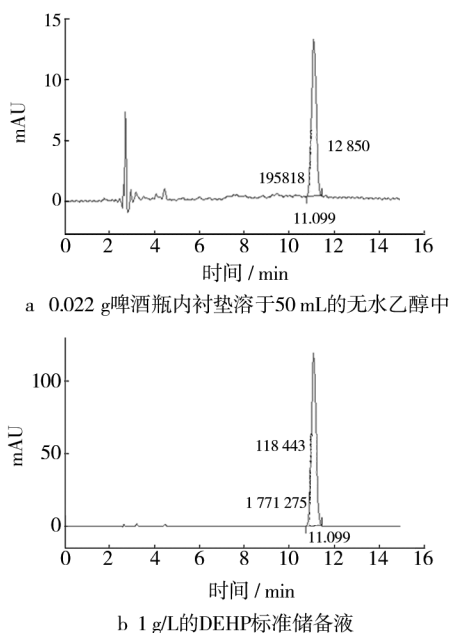


图 2 啤酒瓶内衬垫溶出物色谱图
Fig. 2 Chromatogram of the inner liner of beer bottles

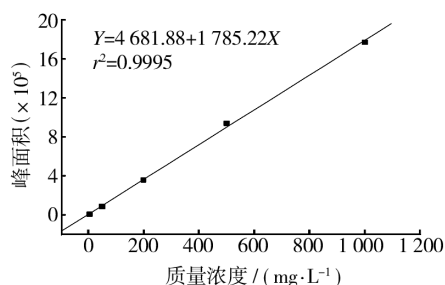


图 3 DEHP 标准样品在 5~1000 mg/L 范围内的线性回归曲线

Fig. 3 Regression equation of standard solution under the concentrations between 5 mg/L and 1.000 g/L

0.999 5。

从图 3 可以看到,因为 0.005~1 g/L 的线性相关范围较宽,在确定啤酒瓶内衬垫中 DEHP 的含量时会存在很大的误差。因此把整个浓度范围再重新划分为低、中、高 3 个浓度等级,以减少实验中的误差。0.005~0.015 g/L,0.005~0.2 g/L,0.050~1 g/L 3 个浓度等级下的线性回归曲线见表 2。

称取 0.022 g 啤酒瓶内衬垫,根据样品前处理方法分别得到待测样品溶液,进样检测,色谱图见图 4。

由图 4 DEHP 溶出的色谱图,可以发现其峰面积分别为 125 212,195 818,对比于上述得到的低、中、高三浓度的线性曲线,认为较为适用的是在 0.005~

表 2 不同线性相关范围内 DEHP 标样的回归方程和相关系数			
Tab.2 Regression equations and correlation coefficients of standard solution under three concentration grades			
物质	线性相关范围/(g·L ⁻¹)	回归方程	相关系数 r
DEHP	0.005~0.015	$Y=-3126.97+1795.07X$	0.9993
	0.005~0.2	$Y=-1701.80+1789.41X$	0.9997
	0.050~1	$Y=-9400.22+1778.86X$	0.9997

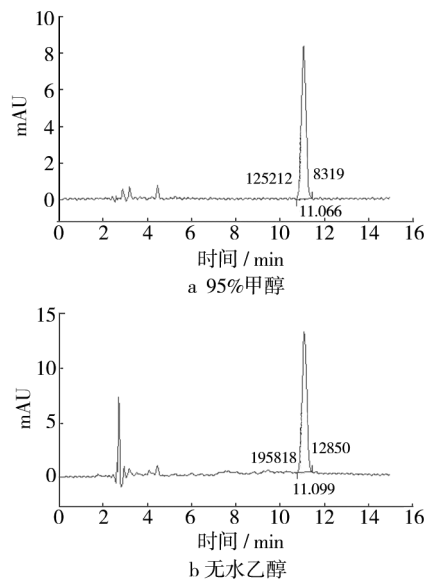


图 4 0.022 g 啤酒瓶内衬垫分别溶于 50 mL 不同溶液中的色谱图
Fig. 4 Chromatograms of 0.022 g inner liner of beer bottles dissolved in 50 mL different solution

2.000 g/L 浓度范围内的回归方程。根据回归方程计算出啤酒瓶内衬垫在 95% 甲醇和无水乙醇中的溶出量分别为 15.97% 和 24.45%。

2.3 方法的精密度

为了确定实验测量的数值精确度,取 100 mg/L 的 DEHP 标准溶液,每次进样 10 μL,实验重复 7 次,测得所有的峰面积,进行测量值的精确度表征,考察结果的重复性^[7]。结果以相对标准偏差 RSD 进行考察,一般要求不大于 2.0%^[8]。

实验得到,当 DEHP 浓度为 100 mg/L 时,保留时间和峰面积的精密度 RSD 分别为 0.035% 和 1.476%,据此说明试验方法的精密度良好。

2.4 方法的回收率

加标回收测量考察的是前处理,以及在仪器测试过程中待测目标物的前处理情况(包括是否全部从样

品中提取出来,是否在前处理过程有损失或污染等),以此来衡量测试方法的可行性。回收率一般在 90%~110%之间比较合适^[9]。

加标回收实验 1:准确称取 0.6 g 的啤酒瓶盖内衬垫,剪成碎片以后放入 50 mL 的容量瓶中,然后分别加入 2.7,5.6,10.4 mg 的 1 g/L 的 DEHP 标准溶液。根据样品前处理方法一,得到加标回收样品溶液,进样检测,计算得到的回收率和精密度见表 3。

表 3 浸泡在 95% 甲醇中的啤酒
瓶垫内衬垫的回收率及精密度 (n=7)

Tab.3 The recovery and precision of beer bottles' inner liner soaking in 95% methanol (n=7)

物质	原有量 /mg	加入量 /mg	回收量 /mg	回收率 /%	RSD /%
DEHP	0.095	2.7	2.6515	98.2	0.16
			2.6435	97.9	
			2.6453	98.0	
			5.9369	106.0	
	0.095	5.6	5.9479	106.2	0.39
			5.9038	105.4	
			11.3683	109.3	
			11.3498	109.1	
	0.095	10.4	11.3463	109.1	0.10

加标回收实验 2:准确称取 0.4 mg 的啤酒瓶盖内衬垫,剪成碎片以后放入 50 mL 的容量瓶中,然后分别加入 2.7,5.6,10.4 mg 的 1 g/L 的 DEHP 标准溶液,根据样品前处理方法 2,得到加标回收样品溶液,进样检测,计算得到的回收率和精密度见表 4。

表 4 浸泡在无水乙醇中的啤酒瓶垫内衬
垫的回收率及精密度 (n=7)

Tab.4 The recovery and precision of beer bottles' inner liner soaking in ethanol (n=7)

物质	原有量 /mg	加入量 /mg	回收量 /mg	回收率 /%	RSD /%
DEHP	0.098	2.4	2.6033	108.5	0.32
			2.6199	109.1	
			2.6178	109.1	
			5.5821	113.9	
	0.098	4.9	5.5649	113.6	0.26
			5.5941	114.2	
			10.7114	107.1	
			10.7310	107.3	
	0.098	10.0	10.6958	107.0	0.14

由表 3 和 4 的结果可以看到,2 种不同的前处理方法,得到的回收率均在 95%~110%之间,说明采用的测量方法准确程度较高、精确度好。

3 结论

1) 通过采用高效液相色谱法对啤酒瓶盖内衬垫中增塑剂进行检测,在色谱条件优化条件下,得到了分离 6 种 PAEs 标准储备液的最佳方法,同时证明了啤酒瓶盖内衬垫中的增塑剂为 DEHP。通过线性回归方程计算啤酒瓶盖内衬垫中 DEHP 的含量,得到浸泡在 95% 甲醇和无水乙醇中的溶出量分别为 15.97% 和 24.45%。

2) 精确度实验和回收率实验表明,采用的测量方法具有操作简单、分析迅速的特点,且准确度高、精确度好,适用于对微量样品的检测。

参考文献:

[1] WANG L,JIANG G B,CAI Y Q,et al. Cloud Point Extraction Coupled with HPLC-UV for the Determination of Phthalate Esters in Environmental Water Samples[J]. Journal of Environmental Sciences,2007,19:874-878.

[2] 叶曦雯,王卉卉,牛增元,等. 高效液相色谱法对水性涂料中 11 种邻苯二甲酸酯类的同时测定[J]. 分析测试学报,2009,28(5): 550-554.

[3] ANTONIA G F. Determination of Di-(2-ethylhexyl) Phthalate in Environmental Samples by Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry[J]. J Sep Sci,2009,32: 1383-1389.

[4] 袁军伟,李喜宏,胡云峰. PVC 保鲜膜中 DOP 的迁移及膜性能变化规律研究[J]. 安徽农业科技,2006,43(8): 1742-1744.

[5] 肖乃玉,陆杏春,郭清兵,等. 塑料食品包装中邻苯二甲酸酯类增塑剂迁移研究进展[J]. 包装工程,2010,31(11):123-127.

[6] 刘祥萍,黄薇,吴秀兰,等. 高效液相色谱法测定化妆品中邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯的含量[J]. 中国卫生检验杂志,2009,17(9):1563-1564.

[7] 刘红河,黄晓群,王晖,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定食品中邻苯二甲酸酯[J]. 现代预防医学,2008,35(1):119-121.

[8] CHAUDHARY A K,ANKUSHRAO W S,YADAW S, et al. Validated Reverse Phase HPLC Method for the Determination of DEHP Content in Reconstituting Diluents and in Reconstituted Solutions of Lmipenem and Cilastatin for Injection[J]. E-Journal of Chemistry,2010,7(2): 501-513.

[9] KUMAR N,VERMA N,SONGH O,et al. Estimation of Atenolol by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography[J]. E-Journal of Chemistry,2010,7(3):962-966.