

食品接触材料中邻苯二甲酸酯的 LTQ-Orbitrap 组合式高分辨质谱快速筛查和确证

王晓兵¹, 丁利², 朱绍华², 戴华³, 许宙², 焦艳娜², 王利兵²

(1. 中国石油和化学工业联合会, 北京 100029; 2. 湖南出入境检验检疫技术中心 食品安全科学技术湖南省重点实验室, 长沙 410004; 3. 新疆出入境检验检疫技术中心, 乌鲁木齐 830063)

摘要: 建立了食品接触材料中邻苯二甲酸酯快速筛查确证的高效液相色谱-高分辨质谱法(HPLC-LTQ-Orbitrap/MS)。实验中采用加速溶剂萃取(ASE)法为样品前处理手段, 优化了萃取溶剂、萃取温度、静态萃取时间等实验参数, 提高了食品接触材料中邻苯二甲酸酯的提取效率。采用高分辨质谱有效地去除了基体干扰, 通过静电场轨道阱全扫描得到的精确相对分子质量进行了化合物的定量, 用离子阱的二级质谱图对未知化合物进行了进一步确证。结果表明: 邻苯二甲酸酯的检测限为 1 ng/mL; 该方法的加标回收率为 89.8%~101.3%, 相对标准偏差均小于 8.0%; 所建立的方法简单, 灵敏度高, 适用于食品接触材料中邻苯二甲酸酯类增塑剂的筛查和检测。

关键词: 邻苯二甲酸酯; LTQ-Orbitrap 组合式高分辨质谱; 食品接触材料

中图分类号: TB487; TS206 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2011)15-0043-05

Screening and Confirmation of Phthalates in Food Contact Materials by Hybrid Linear Ion Trap/Orbitrap Mass Spectrometry

WANG Xiao-bing¹, DING Li², ZHU Shao-hua², DAI Hua³, XU Zhou², JIAO Yan-na², WANG Li-bing²

(1. China Petroleum and Chemical Industry Federation, Beijing 100029, China; 2. Technology Center of Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hunan Key Laboratory of Food Safety Science & Technology, Changsha 410004, China; 3. Technology Center of Xinjiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Urumqi 830063, China)

Abstract: A fast screening and conformation method of phthalates in food contact materials based on liquid chromatography mass spectrometry using a linear ion trap-orbitrap hybrid instrument at high mass resolution (HPLC-LTQ-Orbitrap/MS) was developed. Accelerated solvent extraction method was applied for pretreatment of specimen. The operational parameters of ASE were optimized, such as extraction solvent, extraction temperature, static extraction time, flush volume and extraction cycles, to improve extraction efficiency of phthalates from food contact materials. High resolution mass spectrometry was applied to remove matrix interference. Full scanning of electrostatic field orbitrap was applied for quantification of compounds. Secondary mass spectrometric image of ion trap was applied to verify the unknown compounds. The results showed that the detection limit of phthalates were 1 ng/mL; the average recoveries is from 89.8% to 101.1%, with RSDs less than 8.0%. It was concluded that the method is simple, sensitive, and suitable for screening and confirmation of PAEs in food contact materials.

Key words: phthalates; linear ion trap/orbitrap mass spectrometry; food contact materials

邻苯二甲酸酯(PAEs)是一类重要的环境激素类物质, 主要被用作塑料产品增塑剂。塑料制品被广泛

应用于食品包装, 大多数食品均采用塑料制品进行内包装或内衬, 邻苯二甲酸酯类化合物则可能从塑料包

收稿日期: 2011-05-19

作者简介: 王晓兵(1972—), 男, 北京人, 博士, 中国化工协会副教授, 主要研究方向为食品安全与检验检疫安全。

装袋中向食品,特别是含油脂食品,如牛奶、肉类中迁移。大量研究表明,增塑剂对动物机体具有生殖发育毒性和内分泌干扰作用,并具有致突变型和致癌性^[1]。很多国家和国际组织都颁布了关于禁止在玩具和食品等敏感商品中添加邻苯二甲酸酯类增塑剂的禁令,我国对该类增塑剂的添加也作出了相应的规定和限制。但是在实际应用中,往往不知道某种塑料样品添加了哪种增塑剂,因此,对于食品接触材料中邻苯二甲酸酯的快速筛查和确证具有重要意义。

目前,国内外关于邻苯二甲酸酯的检测方法多为气相色谱仪、液相色谱仪或气质联用仪测定^[2-10],采用液相色谱-串联质谱的检测方法报道不多。同时这些方法通常是针对已知目标成份的分析,需要有相应的标准品并建立分析方法。而对于突发事件中的疑似物等应急检测,在没有化学标样和无法在短时间内优化方法的情况下,就无法快速完成检测。线性离子阱静电场轨道阱组合式高分辨质谱(LTQ-Orbitrap)兼有离子阱和高分辨质谱平行检测的能力,离子阱的多级质谱可得到结构碎片,高分辨谱图可得到分子式,可为同类危害因子的非目标化合物乃至未知物的分析提供全面的数据,使分析物的种类被大大扩展。同时 LTQ-Orbitrap 高分辨质谱仪配合全自动筛选应用软件 ToxID 对于高信息量、大量数据文件的高通量数据分析,使危害因子的筛查和确证简化^[11-12]。

笔者以 11 种邻苯二甲酸酯类增塑剂为例,采用 LTQ-Orbitrap XL 组合式高分辨质谱对食品接触材料中的增塑剂残留进行分析,结合 Thermo Scientific 的自动筛选软件 ToxID 2.1 对多组分化合物进行全自动快速数据处理,对食品接触材料中的增塑剂进行快速筛选和确证。

1 实验

1.1 材料与试剂

甲醇、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯、正己烷,均为色谱纯(德国 Merck),甲酸(优级纯,Merck),邻苯二甲酸二丁基酯(DBP)、邻苯二甲酸二辛酯(DNOP)、邻苯二甲酸二己酯(DNHP)、邻苯二甲酸二甲基酯(DMP)、邻苯二甲酸二(丁氧基乙基)酯(DBEP)、邻苯二甲酸二(乙氧基乙基)酯(DEEP)、邻苯二甲酸二戊基酯(DPP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)、邻苯二甲酸二环己基酯(DCHP)、邻苯二甲酸二异丁基酯

(DIBP)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP) 标准品(纯度均 $\geq 98\%$,Dr. S. Ehernstorfer 公司),实验用水为重蒸去离子水。

1.2 仪器与设备

HPLC-LTQ-Orbitrap XL 组合式高分辨质谱(Thermo Scientific,USA),旋转蒸发仪;ASE 300 加速溶剂萃取仪(美国戴安公司);涡旋混匀器(美国 Vortex Genie3);超声波振荡器(美国 KQ-250E)。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 3.5 μm 内径);流动相:溶剂 A 为甲醇,溶剂 B 为 0.1% 甲酸水,梯度洗脱程序为:0~18.0 min, 40%~98%(A), 18.0~25.0 min, 98%(A), 25.01 min, 40%(A), 25.01~30.0 min, 40%(A);进样量:10 μL;流速:300 μL/min;柱温:35 °C。

1.3.2 质谱条件

质量分析器:LTQ/Orbitrap;扫描模式:正离子;质量范围(m/z):150~600;离子源:ESI 喷雾;电压:4.5 kV;管状透镜电压:125 V;鞘气压力:6.125 MPa;辅助气压力:1.4 MPa。

扫描事件(平行模式):

事件 1:静电场轨道阱的高分辨扫描(分辨率 $R=30\ 000$)。

事件 2:事件 1 中最强离子强度的二级碎片离子的线性离子阱扫描。

事件 3:事件 2 中最强离子强度的三级碎片离子的线性离子阱扫描。

归一化能量:35%。

1.4 步骤

1.4.1 标准溶液配制

将 11 种 PAEs 标准品用丙酮配制成 1 mg/mL 的单标准储备液,棕色容量瓶盛装,4 °C 冷藏保存;将上述单标准储备液用甲醇稀释配制成 10 μg/mL 的中间标准溶液,4 °C 冷藏避光储存。使用前取中间标准溶液,用甲醇定容配成溶度为 1.0 μg/mL 的标准工作液。

1.4.2 样品前处理

取适量塑料包装,剪碎后用冷冻研磨机研磨 30 min,准确称取样品 1.0 g 样品,再加入 5.0 g 硅藻土混匀,在不锈钢萃取池中进行加速溶剂萃取。萃取条件为:萃取溶剂为甲醇;压力为 10 MPa;萃取温度为

100 °C; 静态萃取时间为 8 min; 循环次数为 2 次; 溶剂冲洗体积为 60%, 30 s 氮气吹扫, 收集的全部提取液于旋转蒸发仪上旋转蒸干, 用 1 mL 甲醇溶解后过 0.45 μm 的有机膜后进 LC-LTQ/Oribitrap/MS 分析测定。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的优化

实验比较了甲醇与乙腈对邻苯二甲酸酯类物质的分离效果, 在甲醇的环境下目标物的离子化效率优于乙腈; 水相中添加不同的流动相改性剂, 如甲酸、乙酸、乙酸铵等, 实验结果表明邻苯二甲酸酯类物质的分离及响应并无差异, 但水相中添加了甲酸目标物的响应及峰型明显好于纯水。因此, 实验中选择甲醇-0.1% 的甲酸水体系作为流动相。

2.2 质谱条件的优化

在采用的高分辨组合式质谱中, 进行了离子阱以及静电场轨道阱的扫描, 通过静电场轨道阱全扫描得到的精确相对分子质量进行化合物的筛查和确证, 通过离子阱和高分辨的二级质谱图对未知化合物进行进一步确证。

首先, 用 ToxID 2.1 筛选软件建立各化合物的分子式数据库信息表, 并指定离子加合物类型和数量, 设定了正模式下可能存在的 H^+ , NH_4^+ 和 Na^+ 3 种加合物离子。化合物筛选的离子提取窗口宽度为 4 m/z 。11 种 PAEs 的 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 混合标准溶液的离子提取色谱图见图 1, 各化合物氢加合离子形式都被检测到, 同时还存在钠加合离子形式。对于 DNOP 与 DEHP, DBP 与 BIBP 两组同分异构体而言, 通过其碎片离子对其进行确证, 在不同的源内诱导碰撞 (CID) 电压以及高分辨质谱的高能 C 阱裂解 (HCD) 电压下, 其碎片离子不同。各化合物的精确相对分子质量、保留时间和多级碎片信息 (除共同的 m/z 为 149) 见表 1。同时, 分析了基质加标的混合标样, 11 种化合物全部被高分辨离子流图筛选出, 并且都被精确相对分子质量确证, 可以看出, 高分辨质谱能有效去除基体干扰。对于没有标准品的邻苯二甲酸酯类化合物而言, 通过高分辨质谱的精确相对分子质量以及离子阱多级碎片的结构信息, 可以对未知物进行进一步的分析确证。因此, 通过化合物保留时间、精确相对分子质量以及碎片信息能全面达到对化合物筛查

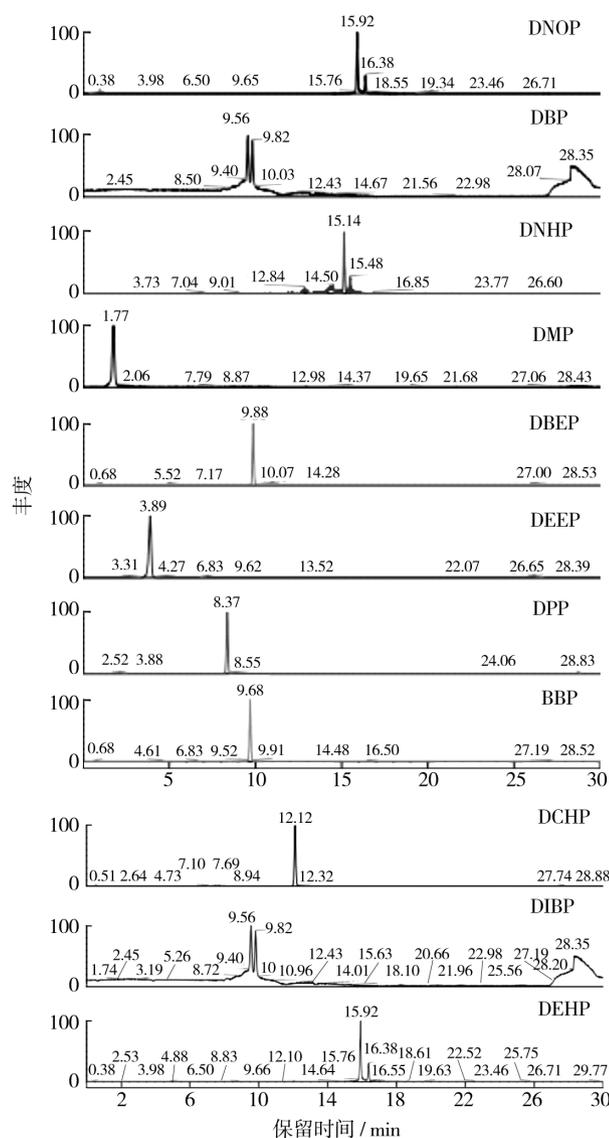


图 1 11 种邻苯二甲酸酯类化合物的提取离子流色谱

Fig. 1 Extraction ion chromatograms of 11 PAEs

确证目的, 同时, 高分辨质谱降低了对色谱分离的要求。

2.3 萃取条件的优化

使用的 ASE 仪压力固定为 10 MPa, 因此未进行压力的优化。本实验中, 比较了二氯甲烷、丙酮、甲醇和无水乙醇 4 种萃取溶剂, 固定温度为 100 °C, 静态时间为 5 min, 循环 2 次, 冲洗体积为 60%。结果表明: 用二氯甲烷作为萃取溶剂时, 萃取液呈现乳白色, 可能是二氯甲烷溶解了部分样品, 而且二氯甲烷的毒性比较大; 而丙酮和无水乙醇作为萃取溶剂的萃取效率均低于甲醇的萃取效率, 因此, 选用甲醇作为萃取溶剂。一般来说, 随着温度的升高, 萃取效率增加, 但

表 1 11 种邻苯二甲酸酯类化合物检测的相关信息

Tab.1 The detection information of 11 PAEs

#	化合物	分子式	检测分子量 <i>m/z</i>	偏差/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	实际保留 时间/min	加合离子			碎片离子	
						H ⁺	NH ⁴⁺	Na ⁺	1	2
1	DNOP	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	391.28290	-3.5	15.92	Y*	N	Y	295.1954	301.15
2	DBP	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	301.14008	-3.2	9.56	Y	N	Y*	245.0719	171.09
3	DNHP	C ₂₀ H ₃₈ O ₄	343.28336	-2.7	15.14	Y*	Y	Y	335.1260	233.11
4	DMP	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	217.04663	-2.3	1.77	Y	N	Y*	195.0652	138.04
5	DBEP	C ₂₀ H ₃₀ O ₆	389.19226	-3.1	9.86	Y	Y	Y*	367.2113	289.12
6	DEEP	C ₁₆ H ₂₂ O ₆	333.12970	-3.5	3.89	Y	Y	Y*	261.0658	—
7	DPP	C ₂₀ H ₁₄ O ₄	341.07733	-3.2	8.37	Y	Y	Y*	325.1114	319.20
8	BBP	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	335.12445	-2.8	9.68	Y	N	Y*	279.0547	204.96
9	DCHP	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	353.17108	-3.5	12.12	Y	N	Y*	271.0946	189.01
10	DIBP	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	301.14008	-3.2	9.56	Y	N	Y*	269.1548	171.06
11	DEHP	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	391.28290	-3.5	15.92	Y*	N	Y	167.0344	279.15

(其中 Y, Y* 代表目标物存在的加合离子, Y* 为主要检测的离子, N 代表在检测中目标物不存在此加合离子)

是供萃取出来的干扰杂质也会增加,而且可能会导致某些不稳定组分的降解损失。为此,考察了不同温度下的萃取效果。其它条件为:静态时间 5 min,循环次数为 2 次,冲洗体积为 60%。结果表明,各组分萃取效率随萃取温度升高而增加,当达到 100 °C 时,萃取效率达到最大值。继续升高温度时,回收率不再增加,因此,选择 100 °C 作为萃取温度。考察了静态萃取时间分别 5, 8, 10, 15 和 20 min 对萃取效率的影响。当静态萃取时间从 8 min 延长到 20 min 时,对萃取效率基本无影响,因此,静态萃取时间设定为 8 min。

2.4 线性范围与检测限

采用 FT-MS 对邻苯二甲酸酯类化合物进行定

量,将 11 种邻苯二甲酸酯类物质的混合标准溶液用甲醇稀释成一系列标准工作液,根据标样浓度与峰面积绘制标准曲线,11 种增塑剂在 5~200 ng/mL 之间线性关系良好,其线性相关系数均大于 0.999。以信噪比为 3 计算,本方法对 11 种 PAEs 的检测限均线为 1 ng/mL。

2.5 回收率与精密度

采用在样品中添加标准溶液的方法,对食品接触材料进行添加回收实验,对 11 种邻苯二甲酸酯类物质分别添加低、中、高 3 个浓度的标准溶液,每个浓度水平进行 6 次重复实验,平均回收率和精密度(RSD)结果见表 2。

表 2 3 个添加水平的回收率和精密度 ($n=6$)Tab.2 Recoveries and precisions for blank sample spiked at three different levels ($n=6$)

PAEs	水平 1			水平 2			水平 3		
	添加量 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	回收率 /%	RSD	添加量 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	回收率 /%	RSD	添加量 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	回收率 /%	RSD
DNOP	2.0	97.6	4.4	10	96.5	5.5	50	100.3	4.7
DBP	2.0	93.7	5.3	10	98.9	3.6	50	96.5	3.5
DNHP	2.0	95.8	3.6	10	97.2	5.8	50	96.7	4.8
DMP	2.0	101.1	6.3	10	89.8	3.9	50	97.8	5.2
DBEP	2.0	98.5	4.2	10	98.2	4.3	50	94.8	6.2
DEEP	2.0	97.6	4.8	10	101.4	5.5	50	96.7	3.8
DPP	2.0	92.8	5.1	10	98.7	4.5	50	94.2	5.4
BBP	2.0	96.5	6.6	10	95.4	6.4	50	98.5	3.6
DCHP	2.0	101.0	3.8	10	97.6	3.5	50	99.8	4.5
DIBP	2.0	98.1	7.5	10	100.2	4.6	50	95.7	5.0
DEHP	2.0	98.2	5.8	10	98.8	4.3	50	94.2	4.7
DNOP	2.0	94.2	3.2	10	101.7	7.2	50	96.2	3.9

3 实际样品检测

用建立的方法对市售食品的包装材料中邻苯二甲酸酯类危害因子进行了筛查和确证,结果表明:BBP,DCHP 在检测的几种包装材料中使用较为普遍,某包装材料中超过 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$,DBEP 在所检测的包装材料中并未发现。

4 结论

以 ASE 技术作为样品前处理手段,以 11 种邻苯二甲酸酯类化合物为例,成功地建立了 HPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱方法用于食品接触材料中邻苯二甲酸酯类化合物的筛查和确证。方法简便快捷、准确,灵敏度高,可用于实际样品中邻苯二甲酸酯类危害因子的检测。

参考文献:

- [1] AMIR S, HAFIDI M, MERLINA G, et al. *Porc Bio*, 2005, 40: 2183—2190. (余不详)
- [2] SHEN H Y. Simultaneous Screening and Determination Eight Phthalates in Plastic Products for Food Use by Sonication-assisted Extraction/GC-MS Methods[J]. *Talanta*, 2005(66): 734—739.
- [3] GUO B Y, WEN B, SHAN X Q, et al. Separation and Determination of Phthalates by Micellar Electrokinetic Chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005

(1095): 189—192.

- [4] CHINGIN K, CHEN H W, GAMEZ G, et al. Detection of Diethyl Phthalate in Perfumes by Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry [J]. *Anal. Chem.*, 2009, 81: 123—129.
- [5] BLOUNT B C, MILGRAM K E, SILVA M J, et al. Quantitative Detection of Eight Phthalate Metabolites in Human Urine Using HPLC-APCI-MS/MS [J]. *Anal. Chem.*, 2000, 72: 4127—4134.
- [6] LVAN O, RADOMIR C, KUBINEC R, et al. Determination of Phthalate Sum in Fatty Food by Gas Chromatography [J]. *Food Chemistry*, 2011(124): 392—395
- [7] 柴丽月, 辛志宏, 蔡晶, 等. 食品中邻苯二甲酸酯类增塑剂含量的测定, 2008(7): 51—63.
- [8] PRAPATPONG P, KANCHANAMAYOON W. Determination of Phthalate Esters in Drinking Water using Solid-phase Extraction and Gas Chromatography [J]. *J Applied Sci*, 2010, 10(17): 1987
- [9] 廖艳, 余煜棉, 赖子尼. 气相色谱法测定 6 种邻苯二甲酸酯痕量组分的固相萃取条件研究 [J]. *化学试剂*, 2010, 32(3): 239
- [10] NOUR K, FEMANDO G, TAMAYO A, et al. Determination of Diethylhexyl Phthalate in Water by Solid Phase Microextraction Coupled to High Performance Liquid Chromatography [J]. *Talanta*, 2006(69): 1095—1099.
- [11] 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.
- [12] 李伟. 塑料包装材料中邻苯类化合物提取方法的比较 [J]. *包装工程*, 2011, 32(7): 47—50.

(上接第 17 页)

此种苹果抓取机械手无需力反馈,因此结构简单,控制方便,制造成本很低,并且使用方便、简单。

参考文献:

- [1] 王金政, 薛晓敏, 路超. 我国苹果生产现状与发展对策 [J]. *山东农业科学*, 2010(6): 117—119.
- [2] 翟衡, 史大川, 束怀瑞. 我国苹果发展现状与趋势 [J]. *果树学报*, 2007, 24(3): 355—360.
- [3] 章军. 六关节三指苹果抓取机械手的自适应柔性分析 [J]. *农业工程学报*, 2010(1): 141—144.

- [4] 章军, 须文波, 杨宏建. 气动式柔性限自由度机械手指 [J]. *液压与气动*, 2004(8): 44—46.
- [5] YANG Jing-zhou, PITARCH E P, ABDEL-MALEK K. A Multi-fingered Hand Prosthesis [J]. *Mechanism and Machine Theory*(S0094—114X), 2004, 39: 555—581.
- [6] 张立彬, 杨庆华, 胥芳, 等. 机器人多指灵巧手及其驱动系统研究的现状 [J]. *农业工程学报*, 2007, 43(4): 12—20.
- [7] 杨庆华, 金寅德, 钱少明, 等. 基于气动柔性驱动器的苹果采摘末端执行器研究 [J]. *农业机械学报*, 2010(9): 154—158.