

分散固相萃取法测定食品中酞酸酯类物质

周丹丹¹, 卢立新^{1,2}, 刘志刚^{1,2}

(1. 江南大学, 无锡 214122; 2. 江苏省食品先进制造装备技术重点实验室, 无锡 214122)

摘要: 建立分散固相萃取-反相液相色谱法同时测定食品及模拟物中 6 种痕量邻苯二甲酸酯类增塑剂 (PAEs) 的方法。采用正交试验分析了以 HLB 为吸附材料富集净化的萃取条件, 确定解析溶剂乙腈的用量为 6 mL, 硫酸镁为 120 mg, 氯化钠为 120 mg。该法检测 6 种样液中 6 种物质峰面积对浓度进行线性回归的相关系数大于 0.999, 相对标准偏差为 0.3% ~ 4.7% ($n=5$), 平均回收率为 62.9% ~ 105.0%, 检测限为 0.019 ~ 0.046 mg/kg。该法简易、高效、成本低, 具有较高回收率。

关键词: 邻苯二甲酸酯类增塑剂; 食品; 高效液相色谱法; 分散固相萃取; HLB

中图分类号: TS206 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2013)23-0009-05

Determination of Phthalates Substances in Food Using Dispersive Solid Phase Extraction

ZHOU Dan-dan¹, LU Li-xin^{1,2}, LIU Zhi-gang^{1,2}

(1. Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Jiangsu Province Key Laboratory of Advanced Manufacturing Equipment and Technology for Food, Wuxi 214122, China)

Abstract: The purpose of this research was to establish a DSPE-RP-HPLC method of simultaneously determining six kinds of trace phthalate plasticizers in food and simulants. The extraction conditions using HLB as sorbent material for enrichment and purification were analyzed by orthogonal experiments. The resolution solvent determined is acetonitrile 6 mL, magnesium 135 mg, and sodium chloride 120 mg. The result showed that the linear regression correlation coefficient for peak area to concentration is above 0.999; the relative standard deviation is 0.3% ~ 4.7% ($n=5$); the average recovery is 62.9% ~ 105.0%; and the detection limit is 0.019 ~ 0.046 mg/kg. It was concluded that this method is simple, efficient, low cost, and higher recovery.

Key words: phthalate plasticizer; food; HPLC; dispersive solid phase extraction; HLB

PAEs 类增塑剂对人体危害大,尤其是对生殖系统的危害较大,因而对该类物质与食品接触材料安全问题上的研究^[1-4]应越发广泛和深入,其同时检测技术^[5-9]是重要的研究内容之一。对于液体食品中典型的 DEP, DIB, DBP, DAP, DEHP, DNOP 的同时检测,该技术的关键在于 2 个方面:一是色谱分析条件,对于高效液相色谱法,主要是对流动相洗脱程序的调整,以保证与目标物性质极相似的杂质也能够与目标组分完全分离,否则会影响检测物质浓度

的准确性和可重复性;二是针对不能直接进样的样品的预处理过程。近年来,分散固相萃取技术 (DSPE) 作为新型预处理法在液体食品检测中已有较多的应用^[10-14],其特点是操作简便、装置简易、耗溶剂量少,但目前该法中吸附材料主要用于净化,没有富集作用,痕量检测需要串联质谱。这里选用 HLB (Hydrophilic and Lipophilic Balance) 固相吸附填料^[15]富集目标物质,它是一种新型材料,具有亲水-亲脂特性,能够同时吸附小极性和中等极性的物

收稿日期: 2013-09-25

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划课题 (2009BADB9B04); 江苏省高校科研成果产业化推进工程项目 (JHB2012-25)

作者简介: 周丹丹 (1986-), 女, 湖北荆门人, 江南大学硕士生, 主攻食品包装。

通讯作者: 卢立新 (1966-), 男, 江苏宜兴人, 博士, 江南大学教授、博导, 主要从事食品包装技术与安全等研究。

质,以保证所有组分同时具有良好的回收效果,且具有广泛的 pH 适用性,适于不同 pH 样品的检测。笔者选择水性、酸性、醇类食品及其模拟物作为研究对象,运用 HPLC 法,以期建立高效、简易、效果好、成本较低的实用的 6 种痕量 PAEs 类迁移物的同时检测技术。

1 材料与方法

1.1 试剂材料

色谱固定液:邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二戊酯(DAP)、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)、邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP),甲醇(色谱纯),乙腈、无水硫酸镁、氯化钠(均为分析纯),以上材料均购于国药集团化学试剂有限公司。40~60 μm HLB 色谱填料,上海博势生物科技有限公司。18.25 兆欧去离子水,自制。白醋、米酒(酒精的体积分数为 9%)购自无锡某超市,经检测不含 PAEs。

1.2 主要仪器设备

实验仪器与设备:U3000 高效液相色谱仪,配有紫外检测器,美国 Dionex 公司;100 mL 高速离心机(3-18K),德国 Sigma 公司;FC104 电子分析天平,上海精密科学仪器有限公司;电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;WH-3 微型漩涡混合仪,上海沪西分析仪器厂有限公司;KQ-50E 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

1.3 标准溶液的配制

称取 DEP 0.0189 g, DIBP 0.0197 g, DBP 0.0193 g, DAP 0.0198 g, DEHP 0.0209 g, DNOP 0.0208 g 置于 100 mL 容量瓶中,加入乙腈至刻度线定容,制得混合标准溶液。分别取 50 μL , 0.75 mL, 1.5 mL, 2.25 mL, 3.0 mL 置于 5 个 10 mL 容量瓶,用乙腈稀释定容,采用峰面积外标法作为定量方法,用保留时间进行定性分析。

1.4 高效液相色谱分析条件

色谱柱为 C18 柱, 5 μm × 4.6 mm × 250 mm。流动相为甲醇和水,梯度洗脱程序为初始时 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=50:50$,其体积比 6 min 时为 68:32, 12 min 时为 82:18, 20 min 时为 90:10, 21 min 时为 96:4, 28 min 时为 100:0, 保持 3 min。紫外检测器波长为

276 nm,柱温为 23 $^{\circ}\text{C}$,进样体积为 10 μL 。

1.5 样品预处理

分别取 24.0 mL 蒸馏水、乙酸溶液(质量浓度为 0.03 g/mL)、白醋、乙醇溶液(体积分数为 10%)、米酒、乙醇溶液(体积分数为 50%),置于 100.0 mL 离心管中,依次分别加入 8.0, 8.0, 8.0, 4.8, 4.8 mL 乙腈, 24.0 mL 纯净水。加入 100.0 mg HLB, 涡旋 1 min, 以 5000 r/min 离心 10 min, 吸除上清液, 加入 6.0 mL 乙腈, 再加入 120.0 mg 无水硫酸镁和 120.0 mg 氯化钠, 涡旋 2 min, 静置, 取上清液过一次针头滤器(0.45 μm), 待测。

2 结果与讨论

2.1 HPLC 流动相洗脱程序

梯度洗脱程序 a 指初始时 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=70:30$, 其体积比 10 min 后为 80:20, 18 min 时为 90:10, 28 min 时为 100:0, 保持 4 min。梯度洗脱程序 b 如 1.4 节所述。经多次实验调整得出, 该洗脱程序下各组分回收率较好。图 1 结果显示, 在该梯度变化下杂质与目标组分有较好的分离效果, 杂质峰对回收干扰小。

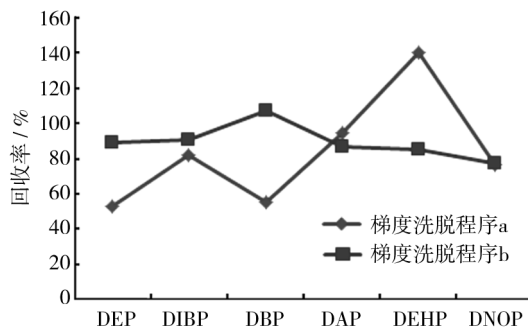


图 1 不同洗脱程序下 PAEs 类物质的回收率

Fig. 1 Recovery rate of PAEs under different gradient elution programs

2.2 标准曲线和检测限

运用外标法定量,平行测定 3 次。以平均峰面积(y)为纵坐标,质量浓度(x , mg/L)为横坐标进行一元一次回归,得出标准曲线方程和相关系数 r 见表 1, r 均为 0.9999, 说明 6 种 PAEs 类物质质量浓度与峰面积具有良好的线性相关性。根据仪器上噪音计算检测限为 0.019~0.046 mg/kg。

表1 PAEs 标样的回归方程、相关系数和检测限
Tab.1 Regression equations, correlation coefficient and detection limit of PAEs reference

PAEs	回归方程	相关系数	检测限/ (mg · kg ⁻¹)
DEP	$y=0.012\ 56+0.058\ 00x$	0.9999	0.019
DIBP	$y=0.031\ 84+0.046\ 66x$	0.9999	0.021
DBP	$y=0.012\ 76+0.045\ 95x$	0.9999	0.028
DAP	$y=0.007\ 61+0.041\ 57x$	0.9999	0.032
DEHP	$y=0.013\ 55+0.031\ 19x$	0.9999	0.033
DNOP	$y=0.002\ 05+0.031\ 37x$	0.9999	0.046

2.3 分散固相萃取条件

样品中水溶性有机溶剂(乙腈和乙醇)占 1/4 的目的在于一方面保证目标物能被 HLB 吸附,同时尽可能地减少 HLB 对杂质的吸附;另一方面若没有加入密度比水小的有机溶剂,HLB 会浮在液面,影响 HLB 与样液作用的静态吸附过程和 HLB 的沉淀。HLB 用量根据样液中目标物的量确定为 100 mg。目标组分解析时选用水溶性的有机溶剂乙腈,因 HLB 沉淀物中含有水,故加入无水硫酸镁和氯化钠,一是吸收一部分水,同时使得乙腈与水相分离,另外硫酸镁和氯化钠会影响目标组分的回收,特别是极性较小的 DEHP 和 DNOP。乙腈用量即定容体积小容易造成局部组分回收过高,这里初步选择4~6 mL。为进一步确定解析溶剂乙腈、无水硫酸镁、氯化钠对 PAEs 回收率的影响,设计了三因素三水平的正交试验。取水性食品模拟物蒸馏水进行试验,按 1.5 节的操作步骤进行预处理。图2 显示了正交试验 1~9 号中 6 种 PAEs 的回收情况,比较 6 种物质回收率

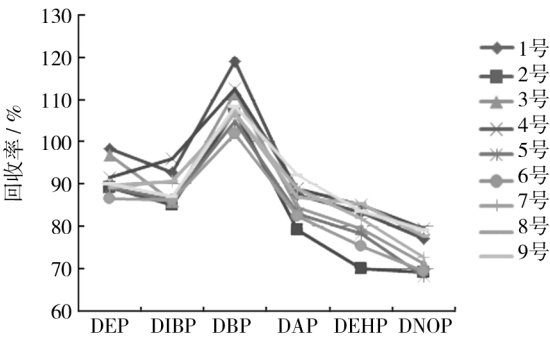


图2 各组预处理下 PAEs 类物质的回收率
Fig.2 Recovery rate of PAEs by pretreatments

的加权平均值,1 号结果最好。表 2 中通过对极差 R 的比较,得到不同预处理下回收率的影响主次顺序为:无水硫酸镁>乙腈>氯化钠。最优水平组合:乙腈用量为 6 mL,无水硫酸镁为 120 mg,氯化钠为 120 mg。

表2 以 PAEs 的回收率变化为响应值的极差分析
Tab.2 Range analysis based on recovery rate changes of PAEs

试验号	试验计划			试验指标
	乙腈/mL	MgSO ₄ /mg	NaCl/mg	平均回收率/%
1	4	120	120	93
2	4	135	135	83
3	4	150	150	88
4	5	120	135	92
5	5	135	150	85
6	5	150	120	84
7	6	120	150	88
8	6	135	120	89
9	6	150	135	90
k_1	264	274	266	
k_2	261	258	266	
k_3	268	262	262	
$\overline{k_1}$	88.14	91.22	88.67	
$\overline{k_2}$	86.91	85.88	88.53	
$\overline{k_3}$	89.36	87.31	87.21	
R	2.44	5.34	1.46	

2.4 样品加标回收率和方法精密度

实验中每个数据均为扣除溶剂空白后所得值。取实验样品加标,按照 1.5 节方法分析测定,计算样品空白样品加标回收率和相对标准偏差,平行测定 5 次。表 3 结果显示蒸馏水,乙酸溶液(质量浓度为 0.03 g/mL),白醋,乙醇溶液(体积分数为 10%),米酒,乙醇溶液(体积分数为 50%)中 6 种 PAEs 平均回收率为 62.9%~105.0%,相对标准偏差为 0.3%~4.7%,证明方法可行。另外乙醇溶液(体积分数为 10%),米酒,乙醇溶液(体积分数为 50%)中低极性的 DEHP 和 DNOP 回收率相对低,可能由于 HLB 吸附时样液中有机溶剂用量不太合适,可进一步进行调整,获得更好的回收效果。

表3 样品加标回收率和相对标准偏差

Tab.3 The spiked recovery rate and relative standard deviation of samples

		DEP	DIBP	DBP	DAP	DEHP	DNOP
加标量 / (mg · L ⁻¹)	a	0.671	0.814	0.694	0.836	0.791	0.754
	b	1.343	1.628	1.388	1.673	1.583	1.508
测定量/ (mg · L ⁻¹)	蒸馏水+a	2.373	3.001	2.915	2.908	2.606	2.267
	蒸馏水+b	5.373	6.264	5.757	6.017	5.436	4.725
	乙酸(3%) +a	2.293	3.090	2.824	2.952	2.690	2.295
	白醋+a	2.182	3.068	2.801	2.842	2.651	2.216
	乙醇(10%) +a	2.747	3.124	2.849	2.762	2.416	2.017
	米酒+a	2.641	3.078	2.809	2.815	2.480	2.066
	乙醇(50%) +a	2.777	2.989	2.781	2.608	2.275	1.898
平均 回收率 /%	蒸馏水+a	88.4	92.2	105.0	86.9	82.3	75.2
	蒸馏水+b	100.1	96.2	103.7	89.9	85.9	78.4
	乙酸(3%) +a	85.4	94.9	101.8	88.3	85.0	76.1
	白醋+a	81.3	94.2	100.9	85.0	83.7	73.5
	乙醇(10%) +a	102.3	96.0	102.7	82.6	76.4	66.9
	米酒+a	98.4	94.6	101.2	84.1	78.4	68.5
	乙醇(50%) +a	103.4	91.8	100.2	78.0	71.9	62.9
RSD/% (n=5)	蒸馏水+a	1.4	3.0	1.6	1.1	1.4	2.6
	蒸馏水+b	0.3	2.3	1.2	0.5	2.4	0.7
	乙酸(3%) +a	0.4	3.6	1.0	1.0	4.7	1.8
	白醋+a	0.6	3.2	1.4	1.0	3.2	3.6
	乙醇(10%) +a	1.3	3.9	2.1	1.1	4.2	2.1
	米酒+a	1.1	3.3	1.9	1.4	5.0	0.8
	乙醇(50%) +a	0.8	3.2	1.7	2.3	5.0	3.0

注:a,b表示不同加标量。

3 结语

建立的分散固相萃取检测法中集吸附萃取、净化、富集、解析为一体,省去了传统方法中定容、浓缩、活化、上样、淋洗、洗脱等操作,具有一定的富集作用,同时无需特殊装置,溶剂用量少,回收率较高,操作简单,耗时少,适用于测定水性、酸性、醇类食品及其模拟物中6种PAEs类化合物。

参考文献:

[1] 黄昕,厉曙光. 酞酸酯毒性作用及其机制的研究进展[J]. 环境与职业医学,2004,21(3):198-204.

HUANG Xin,LI Shu-guang. Advances in the Research on the Phthalatic Acid Esters Toxicity Effects and Its Mechanism[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine,2004,21(3):198-204.

[2] 李挥,墨伟,范斌. 食品包装材料中邻苯二甲酸酯(PAEs)问题的研究[C]//塑料助剂生产与应用技术信息交流会论文集,石家庄,2007:361-364.

LI Hui,MO Wei,FAN Bin. Study of Phthalate Esters form Food Contact Materials[C]//Proceedings of the Conference on the Information Exchange of Plastic Additives Production and Application,Shijiazhuang,2007:361-364.

[3] 陈玺,孙继朝,黄冠星,等. 酞酸酯类物质污染及其危害性研究进展[J]. 地下水,2008,30(2):57-59.

CHEN Xi,SUN Ji-chao,HUANG Guan-xing,et al. Advance

- of Research on Phthalate Esters Pollution and its Harmfulness[J]. Ground water, 2008, 30(2): 57-59.
- [4] 张娜, 刘欣. 邻苯二甲酸酯类化合物的研究进展[J]. 环境科学导刊, 2009, 28(3): 25-28.
ZHANG Na, LIU Xin. Summary of Study Progress on Phthalate Esters[J]. Environmental Science Survey, 2009, 28(3): 25-28.
- [5] TATSUHIRO N, TOHRU I, TAKESHI I, et al. Simultaneous Determination of Phthalate Di and Monoesters in Poly(Vinyl Chloride) Products and Human Saliva by Gas Chromatography-mass Spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2002, 780: 35-44.
- [6] HIROYUKI T, KAORI S, YUKI Y, et al. Simultaneous Determination of Phosphate Esters and Phthalate Esters in Clean Room Air and Indoor Air by Gas Chromatography-mass Spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 519: 213-218.
- [7] SHEN Hao-yu. 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.
- [8] SHEN Hao-yu, JIANG Hai-liang, MAO Hong-lei, et al. Simultaneous Determination of Seven Phthalates and Four Parabens in Cosmetic Products Using HPLC-DAD and GC-MS Methods[J]. Liquid Chromatography, 2007, 30: 48-54.
- [9] RIE I, NAKO M, MIGAKU K, et al. Simultaneous Determination of Di(2-ethylhexyl) Phthalate, Mono(2-ethylhexyl) Phthalate, and Phthalic Acid Migrating from Gamma-ray Irradiated Polyvinyl Chloride Sheet by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2008, 31: 198-209.
- [10] MALONE E M, ELLIOTT B C T, KENNEDY D G, et al. Rapid Confirmatory Method for the Determination of Sixteen Synthetic Growth Promoters and Bisphenol A in Bovine Milk Using Dispersive Solid-phase Extraction and Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2010, 878: 1077-1084.
- [11] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D, et al. Fast and Easy Multi-residue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce[J]. J AOAC Int, 2003, 86(2): 412-431.
- [12] STEVEN J L, KATEHINA M, ALAN R L, et al. Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables[J]. J AOAC Int, 2005, 88(2): 615-629.
- [13] 唐晓姝, 张秋香, 杜先锋, 等. DSPE-LC-MS/MS 法测定牛奶及酸奶中雌激素[J]. 食品工业科技, 2013, 34(6): 53-57.
TANG Xiao-shu, ZHANG Qiu-xiang, DU Xian-feng, et al. Determination of Estrogens in Milk and Yoghurt by DSPE-LC-MS/MS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(6): 53-57.
- [14] 邓莉, 郝学财. 分散固相萃取技术分析油脂类食品中塑化剂含量[J]. 分析化学, 2013, 41(7): 1037-1043.
DENG Li, HAO Xue-cai. Determination of Phthalic Acid Esters in Fat-containing Foods by Dispersive Solid Phase Extraction[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(7): 1037-1043.
- [15] 林兴桃, 王小逸, 陈明, 等. 固相萃取高效液相色谱法测定水中邻苯二甲酸酯类环境激素[J]. 环境科学研究, 2004, 17(5): 71-74.
LIN Xing-tao, WANG Xiao-yi, CHEN Ming, et al. Analysis of Phthalic Acid Esters of Environmental Hormone in Water Using Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography[J]. Research of Environmental Sciences, 2004, 17(5): 71-74.

欢 迎 订 阅

欢 迎 投 稿