

气相色谱串接质谱快速检测不同类别食品中的邻苯二甲酸酯

刘印平¹, 路杨¹, 王丽英¹, 杨立新^{1,2}, 常凤启¹

(1. 河北省疾病预防控制中心, 石家庄 050021; 2. 北京大学, 北京 100871)

摘要: **目的** 建立食品中16种塑化剂的快速检测方法。**方法** 采用简化净化步骤, 不同试样采用不同的萃取溶剂, 然后用固相萃取柱净化、洗脱, 洗脱液浓缩后, 用气相色谱-串接质谱仪测定, 内标法定量测定不同食品中16种邻苯二甲酸酯。**结果** 16种邻苯二甲酸酯的线性关系较好, 方法检测限范围为0.01~0.03 mg/kg。在高中低3个水平下进行加标实验, 得到的平均回收率为65.7%~115.3%, 相对标准偏差小于15% ($n=6$)。**结论** 该方法简便快速, 溶剂消耗量小, 且应用串接质谱更好地消除了基质效应的干扰, 灵敏度高, 定性更准确。

关键词: 邻苯二甲酸酯; 气相色谱-串接质谱; 基质效应; 食品

中图分类号: TB487; TS207 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2015)01-0037-05

Fast Determination of Phthalate Esters in Different Types of Food by Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry

LIU Yin-ping¹, LU Yang¹, WANG Li-ying¹, YANG Li-xin^{1,2}, CHANG Feng-qi¹

(1. Hebei Provincial Center for Disease Prevention and Control, Shijiazhuang 050021, China;

2. Peking University, Beijing 100871, China)

ABSTRACT: To develop a fast and accurate method with simple pretreatment and good selectivity to detect 16 plasticizers in different types of foods in this study. After extraction of different types of foods using different solvents, the phthalate esters (PAEs) were further cleaned up and eluted by solid phase extraction. Then after concentration, the extracts were directly injected into gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). The 16 PAEs in different types of foods were determined using the internal standard method. There was a good linear relation among the 16 PAEs, and the method quantification limits were between 0.01 mg/kg and 0.03 mg/kg. Spiking experiments at high, medium and low levels revealed that the average recoveries ranged from 65.7% to 115.3%, and the relative standard deviations were lower than 15% ($n=6$). The method was shown to be rapid and reliable, with low solvent consumption. The application of tandem mass spectrometry better eliminated the interference of matrix effects, resulting in high sensitivity and more accurate qualitative measurements.

KEY WORDS: phthalate esters; gas chromatography tandem mass spectrometry; matrix effects; foods

邻苯二甲酸酯(PAEs), 亦称塑化剂, 是世界上广泛使用的人工合成有机化合物, 主要用作塑料、橡胶等的增塑剂和软化剂, 以提高塑料的可塑性和韧性, 降低加工温度。日常生活中人们容易在塑料包装制品中接触PAEs类, 很多食物在加工、加热、包装、盛装的过程中, 都有可能会造成邻苯二甲酸二酯(DEHP)的溶出且渗入食物中^[1-2]。PAEs可通过呼吸道、消化

道和皮肤等途径进入人体, 目前国内外研究发现, 人类PAEs污染状况已相当严重^[3-6]。在我国增塑剂的产品结构中, 邻苯二甲酸酯类增塑剂是用量最大的一个增塑剂种类, 在塑料制品中的含量可达60%。塑料包装中邻苯二甲酸酯类增塑剂在食品中的迁移, 是造成食品中邻苯二甲酸酯类增塑剂污染的主要来源。由于邻苯二甲酸酯类存在的广泛性, 使得测定的基质复

收稿日期: 2014-10-08

作者简介: 刘印平(1983—), 女, 河北石家庄人, 硕士, 主管技师, 主要从事食品安全检测研究。

通讯作者: 杨立新(1984—), 男, 河北邢台人, 北京大学在读博士, 主管技师, 主要从事食品安全检测研究。

杂多样,给样品的前处理带来一定困难,各种前处理手段的效果不尽如人意,操作步骤繁琐,耗时长,耗费大量的试剂和溶剂,回收率不理想,富集能力有限。因此探索更简单、快速、高效的前处理方法将是今后的研究重点之一^[7]。

目前,国外对食品中邻苯二甲酸酯类增塑剂的检测技术已有很多报道^[8-10]。在我国,邻苯二甲酸酯类塑化剂的检测方法多为GC-MS法^[11-14],最具代表性的是2008年开始实施的GB/T 21911—2008《食品中邻苯二甲酸酯的测定》,它适用于食品中16种PAEs含量的测定,含油脂样品中PAEs检测限为1.5 mg/kg,不含油脂样品的为0.05 mg/kg。可见,此法检出限较高,对基质的净化效果要求也很高,在准确度和定量方面还存在一些不足之处。

笔者在以往研究基础上^[15],建立气相色谱-串联质谱联用快速检测不同类别食品中16种邻苯二甲酸酯类塑化剂的方法。针对不同食品基质采用不同溶剂萃取^[16],固相萃取柱净化、洗脱,洗脱液浓缩后,用气相色谱-串联质谱仪分析测定,整个分析过程快速简便,溶剂用量小,更重要的是,串联质谱在准确度和定量方面发挥了极大的优势,可作为现场快速筛选和准确定量检测方法。

1 实验

1.1 仪器与试剂

实验仪器:三重四级杆气相色谱-串联质谱联用仪, Waters Quattro Micro GC; TDL-5-A 型离心机; DB-5 毛细管柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); 分析天平(精确度为0.01 mg); Silica/PSA 混合玻璃固相萃取柱(1.0 g/6 mL), 杭州福裕科技服务有限公司。

实验试剂:16种邻苯二甲酸酯类化合物混合标准品储备液(质量浓度为1000 mg/L),使用液用正己烷将混合标样稀释而成;D4-邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯应用液(质量浓度为200 mg/L);正己烷、二氯甲烷、乙腈(色谱纯)。

1.2 串联气质联用仪操作条件

色谱条件:载气为高纯氮(纯度≥99.999),流量为1.0 mL/min,进样口温度为250 ℃,进样量为1 μL,不分流。升温程序:初始柱温为65 ℃,保持1 min,以20 ℃/min的速率升温至220 ℃,再以5 ℃/min的速率

升温至290 ℃,保持2 min。

质谱条件:接口温度为250 ℃,离子源温度为230 ℃,电离方式为电子轰击源(EI),监测方式为多反应离子监测(MRM),灯丝发射电流为250 μA。

1.3 样品前处理

1.3.1 不含油的液体样品

含有二氧化碳的试样(此类样品包括饮用水、果汁、功能饮料、可乐等饮料)需要先除二氧化碳。准确移取样品2 g,加入0.1 mL D4-邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯应用液。加入正己烷5 mL于10 mL具塞玻璃管中,充分混合后超声提取15 min,静置分层,分层效果不好时用离心机以3000 r/min的速率离心5 min,取上清液进行GC-MSMS测定。同时做空白实验。

1.3.2 不含油的固体样品

称取2 g样品于10 mL具塞玻璃管中,加0.1 mL D4-邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯应用液。加入8 mL正己烷,漩涡混合1 min后,超声萃取20 min。取上清液旋转蒸发至干,正己烷定容至1 mL,进行GC-MSMS测定。同时做空白实验。

1.3.3 乳制品

称取2 g样品于10 mL玻璃离心管中,加入0.1 mL D4-邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯应用液。加入8 mL正己烷,0.5 g氯化钠,充分漩涡混合后,超声处理5 min,并在3000 r/min的速率下离心处理5 min,上清液待净化。取SILICA/PSA玻璃混合型固相萃取柱,先后用5 mL二氯甲烷、5 mL乙腈活化柱子,取上述乙腈相加到柱子上并收集,待样品过柱后再用5 mL乙腈洗脱并一起收集,洗脱液在45 ℃下用氮吹仪吹干,然后用正己烷定容到1.0 mL,样液供GC-MS/MS分析,内标法定量。同时做空白实验。

1.3.4 植物油及含油脂类固体样品

准确称取试样0.5 g(固体样品为粉碎均匀试样,精确至0.01 g)于10 mL的具塞玻璃刻度试管中,加入一定量的D4-邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯内标混匀,再加入5 mL乙腈,漩涡混匀1 min,超声处理5 min,后在3000 r/min的离心速率离心5 min,乙腈相待净化。其他同1.3.3节。

2 结果与讨论

2.1 过程空白控制

邻苯二甲酸酯类化合物存在非常广泛,分析过程

空白试验中避免一切塑料制品。空白试验中主要是DMP, DEP, DIBP, DBP, DEHP, 这些化合物的含量折算到样品中应控制在0.05 mg/kg之内, 其他均应小于0.02 mg/kg。过程空白大于0.1 mg/kg应该分析试剂、器皿污染原因, 要求更换试剂, 玻璃器皿在300 ℃烘烤3 h, 或用有机溶剂淋洗除杂。空白试验中邻苯二甲酸酯含量少可以在样品计算中扣除。

2.2 二级质谱条件优化

首先采用单级质谱全扫描(SCAN)方式测定16种邻苯二甲酸酯的总离子流谱图, 确定各自的保留时间。然后使用GC-MS/MS 三重四极杆串联质谱多离子反应监测(MRM)方式, 对16种PAEs选择适当的母离子进行二次质谱分析, 即在MS1检测各自的母离子, 通过共振碰撞诱导解离池(CID)使母离子裂解产生子离子, 最后在MS2中检测各自对应的子离子。对每一化合物选择一对母离子/子离子作

为定性离子对, 一对母离子/子离子作为定量离子对, 通过对它们各自的CID碰撞能量电压进行优化选择(见表1), 得到16种PAEs的MS/MS二级质谱条件。

2.3 线性方程及最低检测限

取0.1 mL D4-邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯应用液, 加入不同体积分数的邻苯二甲酸酯类化合物混合应用液, 用正己烷稀释, 获得质量浓度为0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 mg/L的邻苯二甲酸酯类化合物混合工作液, 进行仪器分析, 采用内标法定量。由表1可知, 16种邻苯二甲酸酯类物质在0.1~1.0 mg/L范围内线性关系良好, 线性相关系数均大于0.99。该方法的最低检出限(LOD)为取某一低浓度的标准溶液分别加入不同食品样品, 重复测定6次, 以3倍信噪比时PAEs浓度计算方法检测限, 16种邻苯二甲酸酯类物质在食品中的检出限为0.01~0.03 mg/kg。

表1 GC-MS/MS多离子反应监测分析16种PAEs质谱参数
Tab.1 Parameters for the GC-MS/MS detection of 16 PAEs in MRM mode

序号	PAEs	定量离子对	定性离子对	碰撞能量/eV	保留时间/min	线性方程	相关系数 <i>r</i>	检出限/(mg·kg ⁻¹)
1	DMP	163/77	163/135	18	8.07	$y=4.27 \times 10^{-3}x-1.42 \times 10^{-2}$	0.9994	0.02
2	DEP	149/93	149/121	10	8.94	$y=12.4 \times 10^{-3}x+2.51$	0.9998	0.02
3	DIBP	149/93	149/121	15	10.82	$y=4.68 \times 10^{-3}x+2.46 \times 10^{-2}$	0.9996	0.02
4	DBP	149/93	149/121	15	11.64	$y=5.34 \times 10^{-3}x-1.64 \times 10^{-2}$	0.9995	0.03
5	BMEP	149/93	149/121	16	11.97	$y=2.37 \times 10^{-4}x-9.87 \times 10^{-3}$	0.9927	0.03
6	BMPP	149/93	149/121	15	12.71	$y=2.41 \times 10^{-3}x-1.22 \times 10^{-2}$	0.9999	0.02
7	BEEP	149/93	149/121	10	13.11	$y=4.80 \times 10^{-4}x-1.98 \times 10^{-2}$	0.9956	0.02
8	DPP	149/93	149/121	15	13.53	$y=5.29 \times 10^{-3}x-6.56 \times 10^{-2}$	0.9997	0.03
9	DHXP	149/93	149/121	12	15.85	$y=2.28 \times 10^{-3}x-3.05 \times 10^{-2}$	0.9998	0.02
10	BBP	149/93	149/121	15	16.00	$y=1.62 \times 10^{-3}x-3.06 \times 10^{-2}$	0.9983	0.01
11	HEP	149/93	149/121	15	17.11	$y=1.93 \times 10^{-3}x-3.75 \times 10^{-2}$	0.9997	0.02
12	BnBP	149/93	149/121	16	17.49	$y=2.90 \times 10^{-3}x-0.126$	0.9968	0.02
13	DCHP	149/93	149/121	15	18.19	$y=2.54 \times 10^{-3}x-4.75 \times 10^{-2}$	0.9986	0.02
14	DEHP	149/93	149/121	15	18.36	$y=6.57 \times 10^{-3}x-3.15 \times 10^{-3}$	0.9995	0.03
15	DOP	149/93	149/121	15	20.98	$y=4.16 \times 10^{-3}x-8.89 \times 10^{-2}$	0.9994	0.03
16	DNP	149/93	149/121	15	23.56	$y=1.99 \times 10^{-3}x-8.60 \times 10^{-2}$	0.9995	0.02
IS	D4-DEHP	153/125	153/97	15	18.33			

2.4 方法回收率与精密度

加标基质选择5类传统基质, 包括碳酸饮料、蔬菜、乳类、食用油、肉类。加标浓度分别为0.2, 0.5, 1 mg/kg, 得到的平均回收率为65.7%~115.3%, 相对标准偏差RSDs<15%(*n*=6)。国家有迁移限量值规定的邻苯二甲酸酯类(邻苯二甲酸二丁酯DBP, 邻苯二甲

酸二(2-乙基)己酯DEHP, 苯二甲酸二壬酯DNP)的回收率结果见表2。由表2可见, 当添加邻苯二甲酸酯类增塑剂质量浓度为0.2~1.0 mg/kg时, 回收率为67.3%~114.5%, 说明该方法准确可靠。在确定的分析条件下, 鸡肉中16种塑化剂的色谱见图1, 由图1可知, 16种化合物在24 min内可以有效分开, 峰型和对称性较好, 出峰附近无干扰峰。

表2 加标回收结果
Tab.2 Recovery results of spiking experiments

食品	邻苯二甲酸二丁酯DBP			邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯DEHP			邻苯二甲酸二壬酯DNP		
	加标量/ (mg·kg ⁻¹)	本底值/ (mg·kg ⁻¹)	回收 率/%	加标量/ (mg·kg ⁻¹)	本底值/ (mg·kg ⁻¹)	回收 率/%	加标量/ (mg·kg ⁻¹)	本底值/ (mg·kg ⁻¹)	回收 率/%
饮料	0.2	0.25	78.0	0.2	0.29	77.6	0.2	0	75.7
	0.5	0.25	79.6	0.5	0.29	88.3	0.5	0	80.6
	1.0	0.25	85.2	1.0	0.29	76.2	1.0	0	89.6
蔬菜	0.2	0	87.0	0.2	0	73.1	0.2	0	67.3
	0.5	0	78.3	0.5	0	71.6	0.5	0	86.6
	1.0	0	85.0	1.0	0	85.1	1.0	0	91.9
乳类	0.2	0.22	74.7	0.2	0	80.3	0.2	0	73.9
	0.5	0.22	89.9	0.5	0	84.9	0.5	0	78.7
	1.0	0.22	98.4	1.0	0	97.0	1.0	0	104.5
食用油	0.2	0.26	87.4	0.2	0.36	80.7	0.2	0.1	87.7
	0.5	0.26	89.7	0.5	0.36	93.2	0.5	0.1	76.2
	1.0	0.26	97.0	1.0	0.36	96.2	1.0	0.1	104.4
肉类	0.2	0.29	78.9	0.2	0.15	76.7	0.2	0	70.6
	0.5	0.29	84.5	0.5	0.15	85.0	0.5	0	86.0
	1.0	0.29	84.1	1.0	0.15	98.4	1.0	0	90.6

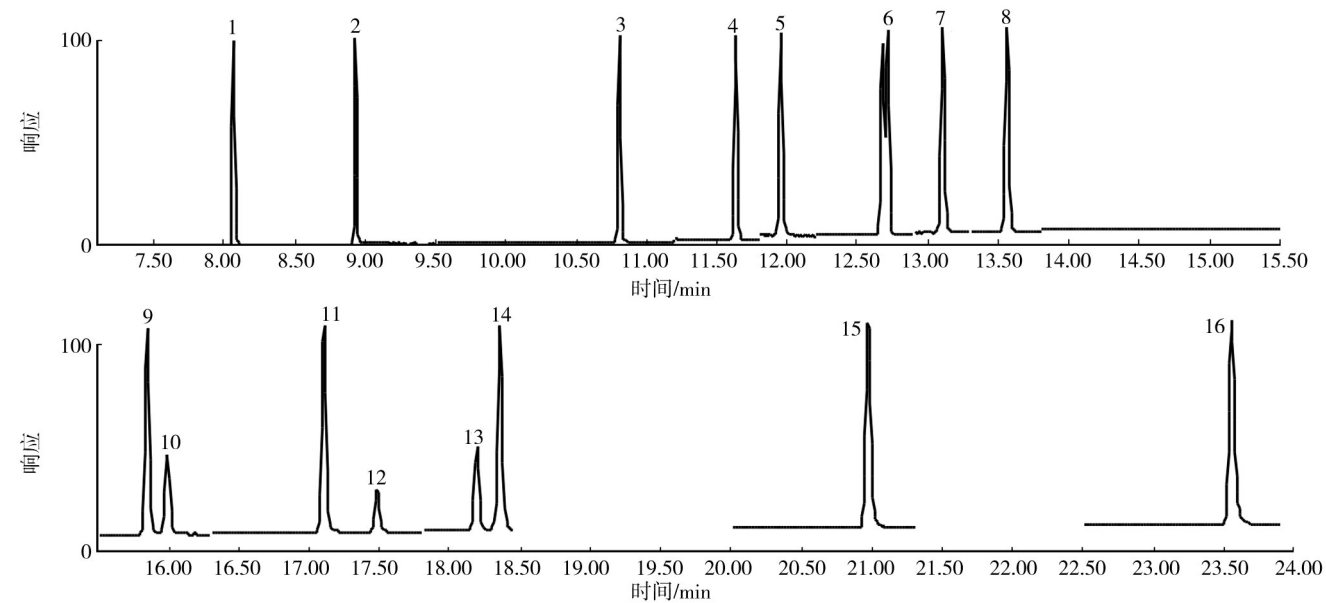


图1 鸡肉中16种邻苯二甲酸酯的加标色谱图(多反应监测模式)
Fig.1 Gas chromatograms of 16 PAEs spiked in chicken at 1 mg/kg in EI-MS/MS mode

3 结语

邻苯二甲酸酯是脂溶性化合物,接触到油脂时易于从包装材料溶出,并转移到食品中。文中建立了溶剂萃取-SPE净化-GC/MS/MS测定食品中的16种邻苯二甲酸酯类塑化剂。GC-MS/MS多离子反应监测减少了基体杂质对PAEs的干扰,提高了该方法的灵敏

度。该方法充分发挥了气相色谱-串接质谱在灵敏度和准确度方面的较大优势,可以避免假阳性物质的干扰,前处理方法简单快速,溶剂消耗小,可应用于各类食品中邻苯二甲酸酯类的测定,对于食品中邻苯二甲酸酯的污染监控检测具有十分重要的意义。

参考文献:

[1] 王君,栾玲玉,张继斌,等. 食品包装用PVC中3种增塑剂

- 的残留及特定条件下的迁移规律[J]. 包装工程, 2013, 34(1): 29—33.
- WANG Jun, LUAN Ling-yu, ZHANG Ji-bin, et al. Study on Residual and Migration of Three Plasticizers in Food Contact PVC Packaging under Specified Conditions[J]. Packaging Engineering, 2013, 34(1): 29—33.
- [2] 王文枝, 国伟, 孙利, 等. 食品包装材料中 DEHP 的危害及其在食品中的暴露评估[J]. 食品科技, 2008, 33(4): 166—168.
- WANG Wen-zhi, GUO Wei, SUN Li, et al. The Hazard and Exposure Assessment of DEHP in Food Contact Materials[J]. Food Science and Technology, 2008, 33(4): 166—168.
- [3] FROMME H, LAHRZ T, PILOTY M, et al. Occurrence of Phthalates and Musk Fragrances in Indoor Air and Dust from Apartment and Kindergartens in Berlin[J]. Indoor Air, 2004, 11(3): 188—195.
- [4] ZHU J, PHILLIPS S P, FENG Y I, et al. Phthalate Esters in Human Milk: Concentration Variations over a 6 Month Postpartum Time[J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(17): 5276—5281.
- [5] SILVA M J, REIDY J A, HERBERT A R, et al. Detection of Phthalate metabolites in Human Amniotic Fluid[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2004, 72(6): 1226—1231.
- [6] BLOUNT B C, SILVA M J, CAUDILL S P, et al. Levels of Seven Urinary Phthalate Metabolites in a Human Reference Population[J]. Environmental Health Perspectives, 2000, 108(10): 979—982.
- [7] 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.
- XIAO Nai-yu, LU Xing-chun, GUO Qing-bing, et al. Research Progress of Phthalate Plasticizer Migration in Plastic Food Packaging[J]. Packaging Engineering, 2010, 31(11): 123—127.
- [8] CASAJUANA N, LACORTE S. New Methodology for the Determination of Phthalate Esters, Bisphenol A, Bisphenol A Diglycidyl Ether, and Nonylphenol in Commercial Whole Milk Samples[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52: 3702—3707.
- [9] CAO X L. Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2010(9): 21—43.
- [10] FENG Y L, ZHU J, SENSENSTEIN R. Development of a Headspace Solid Phase Microextraction Method Combined with Gas Chromatography Mass Spectrometry for the Determination of Phthalate Esters in Cow Milk[J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 538: 41—48.
- [11] 熊金龙, 任静, 王未鲜, 等. 气质联用法检测凹凸棒土中 16 种邻苯二甲酸酯类塑化剂的研究[J]. 中国化工贸易, 2012, 4(1): 157—159.
- XIONG Jin-long, REN Jing, WANG Wei-xian, et al. Determination of Sixteen Kinds of Phthalate Plasticizers in Attapulgite by Gas Chromatography-mass Spectrometry[J]. China Chemical Trade, 2012, 4(1): 157—159.
- [12] 郑向华, 林立毅, 方恩华, 等. 固相萃取-气相色谱-质谱法测定食品中 23 种邻苯二甲酸酯[J]. 色谱, 2012, 30(1): 27—32.
- ZHENG Xiang-hua, LIN Li-yi, FANG En-hua, et al. Determination of 23 Phthalate Esters in Food by Solid-phase Extraction Coupled with Gas Chromatography-mass Spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2012, 30(1): 27—32.
- [13] 吴惠勤, 朱志鑫, 黄晓兰, 等. 不同类别食品中 21 种邻苯二甲酸酯的气相色谱-质谱测定及其分布情况研究[J]. 分析测试学报, 2011, 30(10): 1079—1087.
- WU Hui-qin, ZHU Zhi-xin, HUANG Xiao-lan, et al. Study on Determination of 21 Phthalate Acid Esters and Their Distribution in Different Types of Foods by Gas Chromatography-mass Spectrometry[J]. Journal of Instrument Analysis, 2011, 30(10): 1079—1087.
- [14] 卢春山, 李玮, 屠海云, 等. 气相色谱-质谱联用测定食品中的邻苯二甲酸酯[J]. 分析测试学报, 2010, 29(10): 1036—1040.
- LU Chun-shan, LI Wei, TU Hai-yun, et al. Determination of Phthalate Esters in Food Samples by Gas Chromatography-mass Spectrometry[J]. Journal of Instrument Analysis, 2010, 29(10): 1036—1040.
- [15] 王淑惠, 刘印平, 王丽. 气相色谱串联质谱快速检测植物油中邻苯二甲酸酯[J]. 应用化工, 2013, 42(2): 376—379.
- WANG Shu-hui, LIU Yin-ping, WANG Li. Determination of Phthalate Esters in Edible Vegetable Oils by Gas Chromatography Tandem Mass Spectrometry[J]. Applied Chemical Industry, 2013, 42(2): 376—379.
- [16] 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.
- LI Wei. Comparison of Phthalates Extraction Methods in Plastic Packaging[J]. Packaging Engineering, 2011, 32(7): 47—50.