

HPLC-MS/MS 法测定食品接触材料中 6 种邻苯二甲酸酯的含量

丁利¹, 肖家勇¹, 龙妍娇², 付善良¹, 王晓兵³, 王利兵¹

(1. 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; 2. 广东出入境检验检疫局, 广州 510623; 3. 中国石油和化学工业联合会, 北京 100029)

摘要: 建立了测定食品接触材料中 6 种邻苯二甲酸酯的含量的高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)。实验以 Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱为分析柱, 以甲醇-0.1% 的甲酸水为流动相, 采用梯度模式洗脱。质谱离子源的工作模式为正离子电离模式(ESI⁺), 流速为 0.35 mL/min, 采用多反应监测离子模式(MRM)进行检测定量。实验样品前处理采用了加速溶剂萃取法, 明显提高了食品接触材料中邻苯二甲酸酯的提取效率。结果表明: 6 种邻苯二甲酸酯在其线性范围内线性关系良好($R^2 > 0.999$), DPRP 和 BBP 的定量限为 1.0 ng/mL, DCHP, DNHP, DHP, DBEP 的定量限为 0.2 ng/mL, DPRP 和 BBP 的检测限为 0.2 ng/mL, DCHP, DNHP, DHP, DBEP 的检测限为 0.05 ng/mL。该方法的加标回收率为 89.2%~107.5%, 相对标准偏差均小于 5.0%。实验表明, 所建立的方法简单、灵敏度高, 适用于食品接触材料中的 6 种邻苯二甲酸酯类增塑剂的分析检测。

关键词: 邻苯二甲酸酯; 高效液相色谱-串联质谱法; 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)15-0039-04

Determination of 6 Phthalates in Food Contact Materials by HPLC-MS/MS

DING Li¹, XIAO Jia-yong¹, LONG Yan-jiao², FU Shan-liang¹, WANG Xiao-bing³, WANG Li-bing¹

(1. Technology Center of Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hunan Key Laboratory of Food Safety Science & Technology, Changsha 410004, China; 2. Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangzhou 510623, China; 3. China Petroleum and Chemical Industry Federation, Beijing 100029, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was established and validated for simultaneous determination of 6 phthalates in food contact materials. The analytes were separated by an Agilent ZORBAX SB-C18 column with a mobile phase of methanol-water in gradient elution mode at the flow rate of 0.35 mL/min, in which the water phase was added 0.1% formic acid, the mass spectrometry worked in positive ion mode and MRM was adopted for quantification of the analytes. Besides, samples were extracted with accelerated solvent extraction, which significantly increased extraction efficiency of phthalates from food contact materials. The results showed a good linearity for 6 phthalates under the optimal conditions. The correlation coefficients were all more than 0.999; the limits of quantification of the method is 1.0 ng/mL for DPRP, BBP and 0.2 ng/mL for DCHP, DNHP, DHP, and DBEP; detection limit is 0.2 ng/mL for DPRP, BBP and 0.05 ng/mL for DCHP, DNHP, DHP, and DBEP; average recoveries of the 6 analytes at three spiked level ranged from 89.2% to 107.5%, with RSD less than 5.0%. The method is sensitive and simple, and is suitable for determination of the 6 phthalates in food contact materials.

Key words: phthalates; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; food contact materials

邻苯二甲酸酯(简称 PAEs, 别名酞酸酯)是目前塑料、橡胶工业中使用最为广泛的一类增塑剂, 其旨

在通过对高聚物分子的改性来增加加工成型时的可塑性和流动性, 继而使成品具有更好的柔韧性^[1-2]。

收稿日期: 2011-05-18

作者简介: 丁利(1981—), 女, 四川绵竹人, 博士, 湖南出入境检验检疫中心高级工程师, 主要从事食品安全与检验检疫安全。

通讯作者: 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。

过去人们一直认为 PAEs 的毒性低,因而在工业生产中使用毫无限制,但近年来的研究表明:PAEs 具有雌激素活性,可干扰人体内分泌功能,还具有生殖毒性、胚胎毒性、遗传毒性和“三致”效应等^[3-4],目前已被视为最主要的环境污染物之一,各国均已有限制其使用的相关法律法规。塑料制品尤其是一次性塑料制品,作为包装材料具有方便、快捷、美观等优点,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。由于邻苯二甲酸酯类增塑剂与塑料基质之间没有形成共价键,而是以氢键和范德华力连接,彼此之间保持各自独立的化学性质,因而在接触到包装食品中的水和油脂类物质时,便会向食品中迁移。当食品在塑料包装材料中储存的时间越长或用于包装食品的塑料材料中增塑剂含量越高,都会增加邻苯二甲酸酯类物质向食品中迁移的量^[5-6],即对食品的污染程度加大,进而对食用者的健康造成危害。近年来,随着加入 WTO,食品出口量增加,而有关食品接触材料中的 PAEs 的关键检测技术的落后制约了食品的出口,造成了贸易壁垒。为了保证食品从生产到消费者的整个流程的安全,必需要对与食品直接接触的包装材料进行严格的控制以确保食品的安全,所以,对 PAEs 类物质建立可靠的安全检测技术迫在眉睫^[8-9]。

目前国内外关于邻苯二甲酸酯的研究的文献报道主要集中在环境领域,检测方法多为用固相萃取净化后采用气相色谱仪、液相色谱仪或气质联用仪测定^[10-15],采用液相色谱-串联质谱的检测方法报道不多^[16]。笔者选用邻苯二甲酸二己酯(DNHP),邻苯二甲酸丁苄酯(BBP),邻苯二甲酸二环己酯(DCHP),邻苯二甲酸二庚酯(DHP),邻苯二甲酸二丙酯(DPRP),邻苯二甲酸二丁氧基乙酯(DBEP)等 6 种物质为研究对象,建立高效液相色谱-串联质谱法测定食品接触材料中的这 6 种 PAEs 的方法。

1 实验

1.1 材料与试剂

材料:甲醇、二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯、正己烷,均为色谱纯(德国 Merck);邻苯二甲酸二己酯(DNHP),邻苯二甲酸丁苄酯(BBP),邻苯二甲酸二环己酯(DCHP),邻苯二甲酸二庚酯(DHP),邻苯二甲酸二丙酯(DPRP),邻苯二甲酸二丁氧基乙酯(DBEP)

标准品(纯度均 $\geq 99\%$,Sigma 公司)(结构见图 1);水为超纯水(美国 Millipore 超纯水仪制备)。

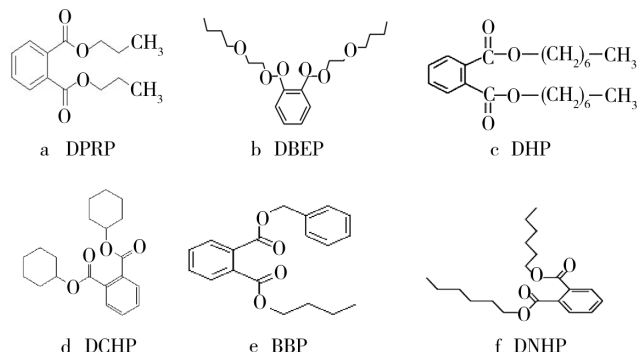


图 1 6 种邻苯二甲酸酯的结构式

Fig. 1 Structures of the six PAEs

1.2 仪器与设备

高效液相色谱-串联质谱联用仪(美国应用生物系统公司);ASE300 加速溶剂萃取仪(美国戴安公司)。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm,3.5 μ m 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:0~10.0 min,50%~2%(B),10.0~15.0 min,2%(B),15.1 min,50%(B),15.0~20.0 min,50%(B);进样量:10 μ L;流速:0.35 mL/min;柱温:35 $^{\circ}$ C。

1.3.2 质谱条件

质谱离子源:电喷雾离子源(ESI);扫描方式:正离子扫描;雾化气(Gas1):413 kPa;辅助气(Gas2):448 kPa;离子喷雾电压(IS):4500.00 V;气帘气(Cur):172 kPa;离子化温度(TEM):500 $^{\circ}$ C;检测方式:多反应监测扫描模式(MRM)。

1.4 步骤

1.4.1 标准溶液配制

分别准确称取 6 种邻苯二甲酸酯各 10.0 mg,用甲醇定容至 10 mL,配成 1.0 mg/mL 的标准储备溶液,4 $^{\circ}$ C 冷藏保存。取上述标准储备液,用甲醇配成 100 μ g/mL 的中间标准溶液,4 $^{\circ}$ C 冷藏避光储存。取适量储备液,用甲醇定容配成浓度为 1.0 μ g/mL 的标准工作液。

1.4.2 样品前处理

准确称取 1.0 g 粉碎的样品,再加入 5 g 硅藻土

混匀,装入加速溶剂萃取池中于加速溶剂萃取仪上按优化的程序进行,萃取溶剂为二氯甲烷-甲醇(体积比为 1 : 1),萃取后的溶液转入旋蒸瓶中旋转蒸干,用 1 mL 甲醇溶解后过 0.45 μm 的有机膜后进 LC-MS-MS 分析测定。

2 结果与分析

2.1 色谱、质谱条件的优化

比较了甲醇与乙腈对 6 种邻苯二甲酸酯类物质的分离效果,2 种溶剂的效果相当,但实验的离子化方式采用的是 ESI+ 模式,甲醇是质子给予体,而乙腈是质子接受体,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、乙酸等,实验结果显示 6 种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。综上所述,实验选择了甲醇-0.1% 的水体系作为实验的流动相,优化后的 6 种邻苯二甲酸酯类物质的分离情况见图 2。

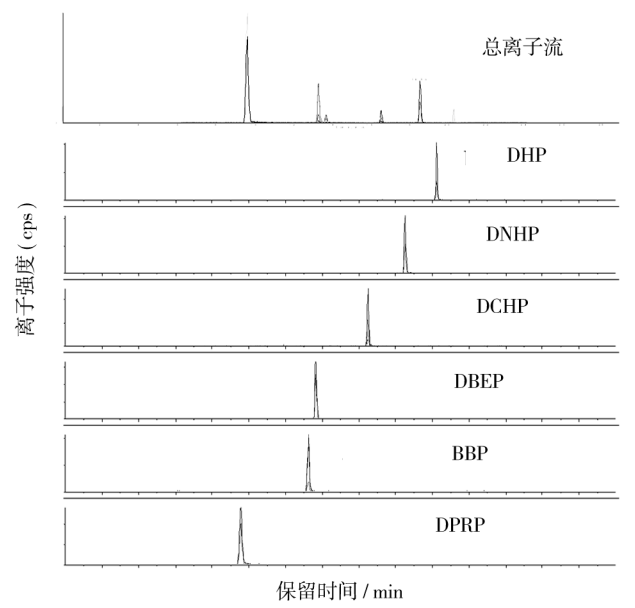


图 2 6 种邻苯二甲酸酯的总离子流与选择离子流
Fig. 2 The total ion chromatograms and selected ion chromatograms of six PAEs

选择正离子电离模式(ESI+),采用流动注射分析(FIA)的方式,对实验中 6 种目标物质的质谱参数进行了优化,主要参数包括喷雾电压、离子化温度、辅助气的流速、目标化合物的母离子及特征碎片离子等,优化的离子源参数见质谱条件。由于检测模式选

用的为多反应监测扫描模式(MRM),试验中也对目标物质的定性、定量离子对等参数进行了优化,实验结果见表 1。

表 1 6 种邻苯二甲酸酯的线性范围、检测限、定量限、定性及定量离子对

Tab. 1 Linear ranges, limit of detection, limit of quantification, quantitative and qualitative ion pair of the 6 PAEs

	线性范围/ (ng · mL ⁻¹)	检测限/ (ng · mL ⁻¹)	定量限/ (ng · mL ⁻¹)	定性 离子对	定量 离子对
DPRP	1.0~100	0.20	1.0	149	191.3
BBP	1.0~100	0.20	1.0	205.1	149.1, 239.1 167.2, 230.8,
DCHP	0.2~100	0.05	0.2	149.1	249.2
DNHP	0.2~100	0.05	0.2	149.3	233.1
DHP	0.2~100	0.05	0.2	149	247.4
DBEP	0.2~100	0.05	0.2	249.3	101.1

2.2 ASE 条件的优化

考察了提取溶剂对邻苯二甲酸酯类物质的萃取效率的影响,考察的溶剂有甲醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、二氯甲烷-乙酸乙酯及二氯甲烷-甲醇,实验发现二氯甲烷-甲醇(体积比为 1 : 1)体系对目标物有较好的提取效率。实验对加速溶剂萃取的温度、压力、预加热时间、静态萃取时间、循环次数等进行了优化,得出最佳的 ASE 参数为:温度:120 $^{\circ}\text{C}$, 压力:10 MPa;预加热时间:5 min;静态萃取时间:5 min;循环次数:2 次;60% 溶剂冲洗,60 s 吹扫。

2.3 线性范围、检测限及定性、定量离子对

将 6 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,按测定条件进行分析,以目标物的质谱响应强度为纵坐标,目标物的浓度为横坐标,即得 6 种邻苯二甲酸酯类物质的标准曲线,其线性相关系数均大于 0.999,方法的检测限(LOD)与定量限(LOQ)均以标准物质的信号响应衡量,分别以信噪比(S/N)为 3 和 10 计算。另外对 6 种邻苯二甲酸酯类目标物的定性、定量离子对也进行了优化,实验结果见表 1。

2.4 准确度与精密度

采用在样品中添加标准溶液的方法,对食品包装材料进行添加回收实验。对 6 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 ($n=6$)

Analyte	添加量 $/(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	回收率 $/\%$	精密度/ $\%$	
			日内	日间
DPRP	2.0	91.2	2.4	3.3
	20.0	89.3	3.8	2.7
	50.0	93.7	3.3	4.9
BBP	2.0	94.6	3.7	4.8
	20.0	91.3	5.0	3.7
	50.0	107.5	3.9	4.4
DCHP	1.0	93.9	2.3	2.7
	20.0	102.3	4.7	3.9
	50.0	98.9	3.1	2.9
DNHP	1.0	89.2	1.1	2.5
	20.0	95.8	2.9	3.2
	50.0	92.5	3.5	4.3
DHP	1.0	97.0	5.0	4.6
	20.0	93.6	3.7	4.4
	50.0	99.3	4.6	3.9
DBEP	1.0	90.6	2.7	1.5
	20.0	101.3	3.5	3.9
	50.0	97.5	4.8	3.7

3 实际样品检测

用建立的方法对市售食品包装材料中 6 种邻苯二甲酸酯进行了检测,选择的 6 种目标物中 DBEP 在所检测的包装材料中并未发现,BBP,DCHP 在检测的几种包装材料中使用较为普遍,含量大部分超过 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其中红枣乳饮料与火腿肠的包装材料中高达 230 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 与 76.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,DPRP,DHP,DNHP 的含量较低,大部分在 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下。

4 结论

建立了高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS-MS)测定食品接触材料中 6 种邻苯二甲酸酯含量的方法,实验结果表明,该方法简便、灵敏度高、专属性好,成功应用于了食品接触材料中的 6 种邻苯二甲酸酯的含量的测定,可为食品包装材料中的邻苯二甲酸酯类物质向食品中的迁移行为研究提供检测依据。

参考文献:

[1] 俞晓雪. 增塑剂市场分析[J]. 精细石油化工进展,2002,3(7): 24—27.

[2] 陶刚,梁诚. 国内外增塑剂市场分析与发展趋势[J]. 塑料科技,2008,36(6):78—81.

[3] JANJUA N R, MORTENSEN G K, ANDERSSON A M, et al. Systemic Uptake of Diethyl Phthalate,Dibutyl Phthalate and Butyl Paraben Following Whole-body Topical Application and Reproductive and Thyroid Hormone Leves in Humans [J]. Environmental Science Technology,2007,41(15):5564—5570.

[4] DUTY S M, SILVA M J, BARR D B, et al. Phthalate Exposure and Human Semen Parameters[J]. Epidemiology,2003,14(3):269— 277.

[5] 顾钧,余雯静. 食品塑料内衬中邻苯二甲酸辛酸 HPLC 分析[J]. 苏州大学学报(自然科学版),2004,20(2):84—87.

[6] 孙利,陈志锋,雍伟,等. 与食品接触的塑料成型品中邻苯二甲酸酯类增塑剂迁移量的测定[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(3):393—395.

[7] 胡晓宇,张克荣,孙俊红,等. 中国环境中邻苯二甲酸酯类化合物污染的研究[J]. 中国卫生检验杂志,2003,13(1):9—14.

[8] 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.

[9] 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.

[10] 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.

[11] LUKS-BETLEJ K, POPP P,JANOSZKA B, et al. Solid-phase Microextraction of Phthalates from Water[J]. Journal of Chromatography A, 2001,938: 93—101.

[12] CAO X L. Determination of Phthalates and Adipate in Bottled Water by Headspace Solid-phase Microextraction and Gas Chromatography/mass Spectrometry[J]. Journal of Chromatography A,2008,1178:231—238.

[13] 吴刚,虞慧芳,傅科杰,等. 食品塑料包装材料中邻苯二甲酸酯类化合物 GC/MS 分析方法[J]. 检验检疫科学,2006,16(5):33—35.

[14] 刘芑岩,李睿,陈晓景,等. 塑料包装材料中内分泌干扰素邻苯二甲酸酯类物质的测定[J]. 河北大学学报(自然科学版),2009,29(3):284—290.

[15] 郭秀文,赵玉妍,陈伟光. 塑料食品包装袋中酞酸酯的毛细管气相色谱测定法[J]. 职业与健康,2006,22(24): 2191—2192.

[16] PEREZ C P, BARCIELA-ALONSO M C, BERMEJO-BARRERA P. Direct LC-ES-MS/MS Determination of Phthalates in Physiological Saline Solutions[J]. Journal of Chromatography B,2011,879:231—235.