

气质联用内标法同时测定白酒中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物

Simultaneous determination of 16 kinds of phthalate esters in white spirit by gas chromatography-mass spectrometry with internal standard

刘妙芬 刘 佳 邱佩丽

LIU Miao-fen LIU Jia QIU Pei-li

(广州市食品检验所, 广东 广州 510440)

(Guangzhou Institute for Food Control, Guangzhou, Guangdong 510440, China)

摘要:建立同时测定白酒中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物 (PAEs) 的气相色谱质谱联用的检测方法。以对苯二甲酸二乙酯和间苯二甲酸二辛酯为内标物, 通过添加蒸馏水降低白酒中的酒精度, 从而提高正己烷对 16 种 PAEs 的提取效率。结果表明, 该方法测定 16 种 PAEs 的线性范围为 0.25~6.00 mg/L, 相关系数大于 0.997。样品的加标回收率在 31.2%~109.0%, RSD 均小于 10%。方法操作简单, 快捷, 与外标法相比, 准确性高, 重现性好, 能满足白酒中邻苯二甲酸酯类化合物的实际检测需求。

关键字: 邻苯二甲酸酯; 白酒; 内标法; 酒精度

Abstract: Introduced a way to measure 16 kinds of phthalate esters from wine by using internal standard on GC-MS. Diethyl terephthalate as the internal standards were added in wine, after reduced the alcohol concentration by adding distilled water. The hexane extraction efficiency of 16 kinds of PAEs was improved significantly. The results revealed that the quantitative detection of the linear was in a range of 0.25~6.00 mg/L, which the correlation coefficient was more than 0.997. Through the measurement of real samples, the method recovery was in 31.2%~109.0%, and the RSD was lower than 10%. To summarize, this approach was easy to operate, had accurate results and good reproducibility. Besides, it can totally meet the requirement of the determination of phthalate esters in wine.

Keywords: Phthalate esters; wine; internal standards; alcoholic strength

邻苯二甲酸酯类化合物 (phthalate esters, PAEs), 作为一种工业增塑剂, 主要应用于塑料、树脂、合成橡胶、食品包装、儿童玩具、化妆品等领域^[1]。但是, 由于其用量少、乳

效果好、综合成本低, 一些不法商家受利益驱使, 将其作为食用乳化剂添加到食品中; 另外, 食品包装材料中含有的塑化剂也会迁移到食品中从而造成污染^[2]。研究^[3-7]表明, PAEs 具有雌激素的特征及抗雄激素生物效应, 会损害人体的肾脏、肝脏和生殖器官, 长期在体内积累还可能导致畸形、癌症、突变等作用, 对人体健康构成危害。目前, 美国环保局重点控制的 129 种污染物黑名单中就有邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯 (BBP)、邻苯二甲酸二甲酯 (DMP)、邻苯二甲酸二丁酯 (DBP)、邻苯二甲酸二乙酯 (DEP)、邻苯二甲酸二正辛酯 (DNOP) 6 种邻苯二甲酸酯类化合物^[8], 其中 DMP、DBP 和 DNOP 已列入中国环境优先控制污染物^[9]。因此, 建立准确、快速、高效的 PAEs 检测方法对于保障食品安全具有重要现实意义。

目前, 食品中 PAEs 残留的仪器测定方法主要有气相色谱法^[10]、液相色谱法^[11]、气质联用色谱法^[12]、液质联用色谱法^[13]、气相色谱串联质谱法^[14]和液相色谱串联质谱法^[15]。GB/T 21911—2008 采用外标线性法测定邻苯二甲酸酯, 但由于 PAEs 种类繁多、性质各异, 在实际检测中, 白酒中的乙醇会对极性较强的 PAEs 的回收率产生较大的影响。而且 PAEs 沸点较高, 会在毛细柱里面逐渐积累, 影响测定的准确性。本研究拟选取两种邻苯二甲酸酯类的同系物作为内标物, 通过加水稀释来降低白酒中酒精含量的方法对 PAEs 的回收率和精密度进行考察, 旨在白酒中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物的同时检测提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

瓶装白酒: 市售。按照分层随机采样设置采样点, 对广州市生产以及消费量大的白酒进行抽样。采集广州市 2 个区销售的白酒样品 7 份, 采样点主要为商场、大型超市等, 均为定型包装;

作者简介: 刘妙芬 (1983—), 女, 广州市食品检验所工程师, 硕士。

E-mail: 56979352@qq.com

收稿日期: 2015-05-25

邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、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(2-甲氧基)乙酯(DMEP)、邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(BMPP)、邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(DEEP)、邻苯二甲酸二戊酯(DPP)、邻苯二甲酸二己酯(DHXP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)、邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯(DBEP)、邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)、邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)、邻苯二甲酸二苯酯(DPhP)、邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)、邻苯二甲酸二壬酯(DNP):纯度>99.0%,美国 AccuStandard 公司;

对苯二甲酸二乙酯(IS1):纯度>99.0%,东京化学工业股份有限公司;

对苯二甲酸二辛酯(IS2):纯度为 98.0%,比利时 Acros Organics 公司;

间苯二甲酸二辛酯(IS3):纯度为 97.9%,英国 Fluorochem 公司;

间苯二甲酸二乙酯(IS4):纯度为 98.0%,英国 Fluorochem 公司;

正己烷:色谱纯,德国 Merck 公司;
无水乙醇:色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器

气相色谱—质谱联用仪:PerkinElmer Clarus 600 Gas Chromatograph,Clarus 600T Mass Spectrometer 型,配 EI 源,美国 PerkinElmer 公司;

电子天平(0.1 mg):BP221S 型,北京赛多利斯仪器有限公司;

漩涡混合器:Maxi Mix II 型,中国赛默飞世尔科技有限公司;

台式高速离心机:Allegra X-3 型,美国贝克曼公司。

1.3 方法

1.3.1 PAEs 标准溶液的配制

- (1) 16 种 PAEs 混合标准储备液浓度为 1 000 mg/L。
- (2) 对苯二甲酸二乙酯和间苯二甲酸二辛酯内标储备液浓度均为 10 mg/L。

(3) 标准使用液的配制:分别吸取 16 种 PAEs 的混合标准储备液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中,正己烷定容,标准使用液浓度为 10 mg/L。准确吸取 10 mg/L 的 16 种 PAEs 混合标准储备液 0.25,0.50,1.00,2.00,3.00,4.00,5.00,6.00 mL,准确加入 10 mg/L 的对苯二甲酸二乙酯和间苯二甲酸二辛酯内标溶液各 1 mL,正己烷定容至 10 mL,得到浓度为 0.25,0.50,1.00,2.00,3.00,4.00,5.00,6.00 mg/L 的标准溶液系列(两种内标物的浓度均为 1 mg/L)。

1.3.2 样品前处理 准确称取待测酒样 5.0 g 于 25 mL 比色管中,准确加入 10 mg/L 的两种内标溶液各 0.2 mL。加入 2.0 mL 正己烷,涡旋 1 min,如果出现浑浊加入 3 g NaCl (650 ℃烘干 4 h)或 4 000 r/min 离心 5 min,静置 5 min 后,吸取上层清液进样测试。

1.3.3 气相色谱的分析条件 色谱柱:PerkinElmer Elite-5MS,30 m×0.25 mm×0.25 μm;进样口温度:250 ℃;载气:

He 1 mL/min;进样量:1 μL;程序升温:60 ℃,保持 1 min,以 20 ℃/min 升至 220 ℃,保持 1 min,以 5 ℃/min 升至 280 ℃,保持 4 min;传输线温度:290 ℃;离子源温度:280 ℃;溶剂延迟:6 min;监测方式:选择离子扫描模式(SIM)。

1.3.4 内标物的筛选 邻苯二甲酸酯种类较多,极性相差较大,试验采用极性较强的对(间)苯二甲酸二乙酯和非极性的对(间)苯二甲酸二辛酯作为内标物,在同等色谱分析条件下,考察内标物与最相邻待测物的分离度,选择分离度较好的物质作为内标物。

2 结果与分析

2.1 内标物的选择

由表 1 可知,对苯二甲酸二辛酯与相邻目标物——邻苯二甲酸二正辛酯的分离度<2,故直接剔除;而间苯二甲酸二乙酯纯度不如对苯二甲酸二乙酯。故试验以对苯二甲酸二乙酯和间苯二甲酸二辛酯为内标物。

表 1 最佳内标物的选择				
Table 1 The selection of theoptimized internal standards				
内标物质	纯度/ %	保留时间/ min	相邻目标峰 保留时间/min	与相邻目标峰 的分离度 R
间苯二甲酸二乙酯	98.0	8.60	8.26	8.50
对苯二甲酸二乙酯	99.0	8.63	8.26	8.51
间苯二甲酸二辛酯	97.9	18.30	18.96	7.06
对苯二甲酸二辛酯	98.0	19.13	18.96	1.40

2.2 确定内标物校准的目标化合物

由于 PAEs 的种类较多,性质各异,而内标物的性质必须与目标物相似,并且保留时间也要相近,为了确定各目标物的内标物质,必须考虑正己烷对 PAEs 和两种内标物在乙醇水溶液中的提取率。以 50%乙醇水溶液为空白样品进行加标,按 1.3.2 中样品处理方法平行处理 9 次,上机测试,并分别用外标法计算每种 PAEs 和内标物的回收率。由图 1 可知,IS1 和 IS2 的回收率分别为 71%和 107%,可分别校准

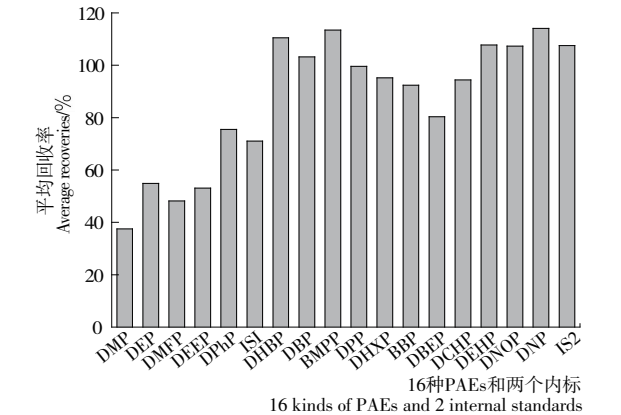


图 1 16 种 PAEs 和 2 种内标物的平均回收率对比图
Figure 1 The average recoveries of the 16 kinds of PAEs and 2 kinds of internal standards

回收率低于 80% 的 DMP、DEP、DMEP、DEEP、DBEP、DPhP 6 种化合物以及回收率高于 85% 的其他 PAEs。

2.3 检出限及标准曲线的线性范围

由图 2 可知,以浓度为横坐标,响应值(目标物峰面积与内标物峰面积的比值)为纵坐标,标准浓度在 0.25 ~ 6.00 mg/L 范围内,响应值与浓度之间呈良好线性关系,以 DBP 为例,标准曲线的回归方程为 $y = 3.461\ 2x$,相关系数为 0.997 4。

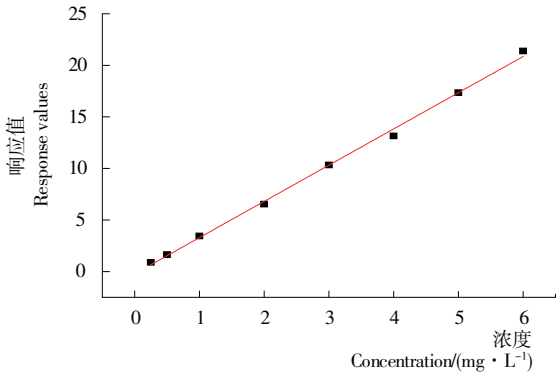


图 2 标准工作曲线
Figure 2 The calibration curve

配制接近 3 倍信噪比的 PAEs 标准溶液进行测试,得到的 DBP 的响应值为 0.041,视为仪器对 DBP 的最低响应值。根据 GB/T 5009.1—2003 中色谱法的检出限公式(1)可计算出,仪器的最低检浓度为 0.011 6 mg/L,折算成方法检出限为 0.004 64 mg/kg,低于 GB/T 21911—2008 中的方法检出限 0.05 mg/kg,能够满足检测要求。

$$L = \frac{S}{b}$$

(1)

式中:
L——仪器检出限,mg/L;
S——仪器的最低响应值,即仪器噪音的 3 倍;
b——线性回归方程的斜率。

2.4 酒精度对回收率的影响

白酒中的乙醇对 PAEs 具有一定的溶解性,会影响正己烷对 PAEs 的提取率。拟通过稀释降低白酒中乙醇的含量,再用正己烷提取分析,内标法校正,考察不同酒精度对目标化合物的影响。

2.4.1 以不同酒精度的乙醇水溶液为空白样 先以 50% vol,40% vol,30% vol,20% vol,10% vol 的乙醇水溶液作为空白样,进行加标浓度为 0.4 mg/kg 的试验。

由图 3 可知,DMP、DEP、DMEP 和 DEEP 受酒精度的影响较大,这 4 种化合物在酒精度为 50% vol 时的回收率为 20%~40%,而当酒精度为 10% vol 时,回收率为 50%~90%。其他化合物的回收率受酒精度的影响不大,当加标量为 0.4 mg/kg 时,BMPP、BBP、DBEP、DCHP、DEHP 和 DPhP 在 20% vol 酒精度时,效果更好。因此,综合考虑,建议通过稀释将白酒的酒精度调到 20% vol 左右,再用正己烷提取,从而降低白酒中乙醇对回收率的影响。

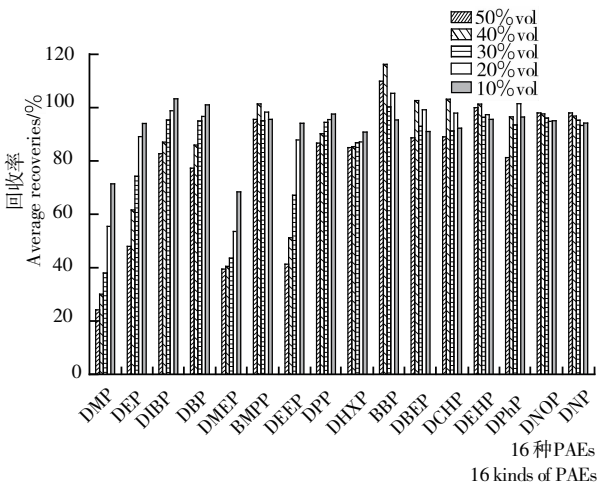


图 3 不同酒精度样品中 16 种 PAEs 的平均回收率
Figure 3 The average recoveries of 16 PAEs in different alcoholic strengths samples

2.4.2 实际样品中酒精度对检测结果的影响 选取 7 种市售瓶装高酒精度(45% vol~54% vol)的白酒作为实际样品,考察酒精度对检测结果的影响。结果(表 2)表明,酒精度稀释至 20% vol 后,其结果明显高于未经稀释样品的结果。选取样品 4 和样品 7,在不稀释和稀释的情况下,进行加标回收试验(加标量均为 1 mg/kg,重复测定 4 次),结果见表 3 和表 4。由表 3 和表 4 可知,通过稀释样品,降低酒精含量,DMP、DEP、DIBP、DMEP、DEEP 和 DPhP 的回收率均大大提高,其他物质也有所提高。

表 2 不同酒精度样品的检测结果[†]

Table 2 The results of the different alcoholic strengths

样品	酒精度/ %vol	DMP/ (mg · kg ⁻¹)	DIBP/ (mg · kg ⁻¹)	DBP/ (mg · kg ⁻¹)	DEHP/ (mg · kg ⁻¹)
样品 1	53	0.176	1.100	1.230	—
	20	0.460	1.380	1.570	—
样品 2	52	—	—	1.230	4.500
	20	—	—	1.470	4.720
样品 3	50	—	0.430	0.204	—
	20	—	0.508	0.240	—
样品 4	50	—	1.140	1.020	1.090
	20	—	1.260	1.170	1.110
样品 5	54	—	1.372	0.636	0.068
	20	—	1.682	0.834	0.068
样品 6	45	—	1.304	0.442	—
	20	—	1.374	0.510	—
样品 7	53	—	—	—	0.696
	20	—	—	—	0.734

[†] “—”表示邻苯二甲酸酯类均为未检出。

表 3 样品 4 的加标回收率

Table 3 The average recoveries of sample 4

检测物	添加浓度/ (mg · kg ⁻¹)	不稀释			稀释至 20%vol		
		结果/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	RSD/%	结果/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
DMP	1.00	0.344	34.4	7.27	0.670	67.0	2.82
DEP	1.00	0.308	30.8	1.04	0.586	58.6	0.82
DIBP	1.00	1.887	75.1	0.12	2.050	79.0	0.39
DBP	1.00	1.830	81.0	0.24	2.100	93.6	0.25
DMEP	1.00	0.120	12.0	6.67	0.466	46.6	2.42
BMPP	1.00	0.920	92.0	0.35	0.962	96.2	0.17
DEEP	1.00	0.100	10.0	3.20	0.362	36.2	1.33
DPP	1.00	0.922	92.2	0.52	0.994	99.4	0.16
DHXP	1.00	0.954	95.4	0.50	0.988	98.8	0.00
BBP	1.00	1.030	103.0	0.15	0.958	95.8	0.17
DBEP	1.00	0.818	81.8	0.20	0.856	85.6	0.00
DCHP	1.00	0.880	88.0	0.73	0.976	97.6	0.33
DEHP	1.00	1.980	89.0	0.57	2.010	89.6	0.88
DPhP	1.00	0.510	51.0	0.31	0.648	84.8	0.00
DNOP	1.00	0.902	90.2	0.53	0.894	89.4	0.18
DNP	1.00	0.908	90.8	0.70	0.894	89.4	0.18

表 4 样品 7 的加标回收率

Table 4 The average recoveries of sample 7

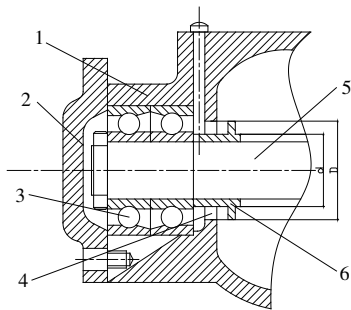
检测物	添加浓度/ (mg · kg ⁻¹)	不稀释			稀释至 20%vol		
		结果/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	RSD/%	结果/ (mg · kg ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
DMP	1.00	0.332	33.2	2.06	0.728	72.8	2.50
DEP	1.00	0.274	27.4	1.75	0.532	53.2	0.60
DIBP	1.00	0.782	78.2	0.27	0.934	93.4	0.86
DBP	1.00	0.790	79.0	0.25	0.984	98.4	3.25
DMEP	1.00	0.232	23.2	1.08	0.652	65.2	0.00
BMPP	1.00	0.890	89.0	0.18	0.944	94.4	0.68
DEEP	1.00	0.086	8.6	1.86	0.312	31.2	1.03
DPP	1.00	0.988	98.8	0.32	1.090	109.0	0.74
DHXP	1.00	0.920	92.0	0.35	0.974	97.4	0.82
BBP	1.00	1.030	103.0	1.72	0.990	99.0	0.16
DBEP	1.00	0.764	76.4	2.09	0.669	66.9	6.63
DCHP	1.00	0.816	81.6	0.39	0.956	95.6	0.67
DEHP	1.00	1.580	88.8	4.31	1.620	88.8	0.49
DPhP	1.00	0.448	44.8	2.14	0.920	92.0	2.09
DNOP	1.00	0.924	92.4	0.69	0.950	95.0	0.51
DNP	1.00	0.890	89.0	0.54	0.904	90.4	0.35

3 结论

本研究采用内标校准法测定白酒中的邻苯二甲酸酯类，用对苯二甲酸二乙酯校准极性较强的 DMP、DEP、DMEP、DEEP、DBEP、DPhP 6 种化合物，用间苯二甲酸二辛酯校准极性较弱的其余化合物。内标法在 0.25~6.00 mg/L 具有

良好的线性关系，相关系数>0.997，能够满足测定的要求。采用自制的不同酒精度的乙醇水加标溶液和实际样品进行加标试验，证实了白酒中的酒精度对邻苯二甲酸酯化合物回收率存在影响，且通过降低白酒中的酒精度含量，可以明显提高正己烷对待测物质的提取率，提高检测的准确性。

(下转第 83 页)



1. 轴承架 2. 轴承端盖 3. 轴承 4. 骨架密封 5. 电动机轴 6. 轴套

图 5 传动装置配合

Figure 5 The assembly diagram of power plant

- (5) 测量精度: $\pm 1\%$ 。
- (6) 测定频率: 1 次/min。
- (7) 测定误差: $\leq 0.1\%$ 。
- (8) 整机功耗: 500 W(含加热器功率)。
- (9) 整机总量: 约 12 kg。

4 结论

本装置主要针对面制食品老化程度的测定, 并已由笔者^[11]完成了发明专利的申请(专利号: ZL201210052853. 0), 该装置设计结构合理, 实现了系统的小型化、系统化, 精确度较高, 易于操作, 拆卸、维护简单, 该仪器在实验室经试验使用, 取得了良好的效果。面制食品老化程度测定装置的研制, 对于解决目前普遍存在的面制食品老化程度指标较为模糊的问题, 具有一定的积极作用, 能满足资金规模较小的中小型食品加工企业的实际需要。

参考文献

1 顾艳丽. 淀粉的老化及抗老化的方法[J]. 广西工学院学报, 2006, 17(增 1): 40~42.

2 曹立松, 刘亚伟, 刘浩, 等. 淀粉老化测定技术研究进展[J]. 粮食与饲料工业, 2014(3): 30~31.

3 张慧慧, 周杨, 郑建仙. 复合改良剂对油条抗老化的影响[J]. 食品与机械, 2013, 29(6): 22~25, 178.

4 郑铁松, 李起弘, 陶锦鸿. DSC 法研究 6 种莲子淀粉糊化和老化特性[J]. 食品科学, 2011(7): 151~155.

5 Fu Zong-qing, Wang Li-jun, Li Dong, et al. The effect of partial gelatinization of corn starch on its retrogradation[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 97(2): 512~517.

6 Piccinini M, Fois S, Secchi N. The application of NIR FT-Raman spectroscopy to monitor starch retrogradation and crumb firmness in semolina bread[J]. Food Anal Methods, 2012(5): 1 145 ~ 1 149.

7 陈卫江. 核磁共振技术在淀粉糊化回生中的研究与应用[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.

8 Kim J O, Kim W S, Shin M S. A comparative study on retrogradation of rice starch gels by DSC, X-ray and α -amylase methods[J]. Starch-Starke, 1997, 49(2): 71~75.

9 电子发烧友. 一种直流电机调速控制原理[EB/OL]. (2013—12—13)[2014—06—24]. <http://www.elecfans.com/article/88/131/555/2011/20110913215479.html>.

10 中国电子制作. 简单实用的 1 小时定时开关[DB/OL]. (2009—09—17) [2014—04—13]. <http://www.66kv.cn/Article/ShowArticle.asp?ArticleID=1529>.

11 冷进松. 一种用于测定面制食品老化程度的装置: 中国, CN102590018B[P]. 2013—09—04.

(上接第 54 页)

参考文献

1 方志青, 林野, 王娅, 等. 气相色谱—质谱法测定白酒中 16 种邻苯二甲酸酯[J]. 食品科学与生物技术, 2015, 34(1): 108~111.

2 吴慧勤, 朱之鑫, 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, 2012, 30(10): 1 079~1 087.

3 赵雅辉, 王小逸, 林兴桃, 等. 邻苯二甲酸酯类化合物的体内代谢及毒性研究进展[J]. 环境与健康, 2010, 27(2): 184~186.

4 沈霞红, 李冬梅, 韩晓冬, 等. 邻苯二甲酸酯类胚胎生殖毒性研究进展[J]. 中国公共卫生, 2010, 26(9): 1 115~1 216.

5 Chales AS, Dennis RD, Parkerton TF, et al. The environmental fate of phthalate esters: a literature review[J]. Chemosphere, 1997, 35(4): 667~749.

6 Poster PM, Mylchreest E, Caido KW, et al. Effects of phthalate esters on the developing reproductive tract of male rats[J]. Hum Reprod Update, 2001, 7(3): 231~235.

7 Bonni M, Errani E, Zerbinati G, et al. Extraction and gas chromatographic evaluation of plasticizers content in food packaging films[J]. Microchemical Journal, 2008, 90(1): 31~36.

8 柳春红, 孙远明, 杨艺超, 等. 邻苯二甲酸酯类增塑剂的污染及暴露评估现状[J]. 现代食品科技, 2012, 28(3): 339~342.

9 齐文启, 孙宗光. 痕量有机物的监测[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.

10 刘凡岩, 高丽, 申杰, 等. 固相微萃取—气相色谱法测定白洋淀水样中的邻苯二甲酸酯类化合物[J]. 色谱, 2010, 28(5): 517~520.

11 张春雨, 王辉, 张晓辉, 等. 凝胶渗透色谱—高效液相色谱法测定油脂食品中的邻苯二甲酸酯类增塑剂[J]. 色谱, 2011, 29(12): 1 236~1 239.

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.

13 黄珂, 赵东豪, 黎智广, 等. 高效液相色谱—串联质谱法测定水中邻苯二甲酸酯[J]. 海洋环境科学, 2011, 30(4): 590~593.

14 张莉, 尚楚翔, 孙成. 气相色谱—三重四极杆质谱法同时测定生脉饮中 17 种邻苯二甲酸酯类化合物的残留量[J]. 色谱, 2014, 32(6): 653~657.

15 李拥军, 熊文明, 陈坚文, 等. 固相萃取/高效液相色谱—串联质谱法测定罗非鱼中 9 种邻苯二甲酸酯[J]. 分析测试学报, 2012, 31(3): 278~283.