

同位素稀释—气相色谱—质谱法同时测定婴幼儿配方奶粉中 8 种己二酸酯塑化剂

Simultaneous determination of 8 adipate plasticizers in infant formula by isotope dilution-gas chromatography-mass spectrometry

黄永辉^{1,2}

HUANG Yong-hui^{1,2}

(1. 福建省产品质量检验研究院, 福建 福州 350002; 2. 国家加工食品质量监督检验中心, 福建 福州 350002)

(1. Fujian Inspection and Research Institute for Product Quality, Fuzhou, Fujian 350002, China;

2. National Quality Supervision and Testing Center for Processed Food, Fuzhou, Fujian 350002, China)

摘要:建立了一种同位素稀释—气相色谱—质谱法同时测定婴幼儿配方奶粉中 8 种己二酸酯增塑剂含量的方法。婴幼儿配方奶粉样品以水溶解完全后,选用正己烷作为萃取溶剂,经超声提取后采用 GC-MS 选择离子模式对 8 种目标物进行定性、定量分析。方法具有良好线性,相关系数 $R^2 > 0.999$ 。检出限为 0.08~0.12 mg/kg,定量限为 0.2~0.4 mg/kg,加标回收率为 94.8%~103.3%,相对标准偏差(RSD) < 8.1%。该方法快速、简单、灵敏度高、重复性好,适用于婴幼儿配方奶粉样品中多种己二酸酯含量的测定。

关键词:己二酸酯;塑化剂;婴幼儿配方奶粉;同位素稀释;气相色谱—质谱法

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of 8 adipate plasticizers in infant formula by isotope dilution-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). With the infant formula sample completely dissolved in water, n-hexane was used as the extraction solvent. After ultrasonic extraction, qualitative and quantitative analysis were carried out by GC-MS in selected ion monitoring modes. The correlation coefficients (R^2) of 8 adipate plasticizers were over 0.999. The limits of detection (LODs) were 0.08~0.12 mg/kg and the limits of quantification (LODs) were 0.2~0.4 mg/kg. The average recoveries of 8 adipate plasticizers in milk powder were ranged from 94.8% to 103.3%. In addition, the relative standard deviations (RSDs) were less than 8.1%. The method has advantage of simplicity,

sensitivity and repeatability, which is suitable for testing of adipate plasticizers infant formula.

Keywords: adipate; plasticizers; infant formula; gas chromatography-mass spectrometry

己二酸酯类塑化剂(adipate plasticizers, AEs)是一类以直链的亚甲基为主体的化合物,与环状结构的塑化剂相比,在较低温度下仍然可以保持聚合物分子链间的运动,有良好的耐寒性能。由于还具有良好的光稳定性和加工性能,且价格相对低廉,AEs 被广泛应用于食品包装材料特别是 PVC 包装膜的生产中^[1-2]。PVC 包装膜常作为熟食、油脂食品、蔬菜等物品的外包装材料。AEs 与基质之间没有形成化学共价键,而是以氢键和范德华力连接,因此容易被释放出来。食品在与包装材料或生产管路接触过程中,特别在高温下,AEs 很可能会迁移到食品中,进而随食品进入人体^[3-4]。研究^[5-7]表明,AEs 中的己二酸二(乙基己基)酯(DEHA)在生物体内长期积累并达到一定量后,会有致畸、致癌、致突变的可能,在人体的代谢过程以及对其他 AEs 的危害水平也正在研究评估中。因此,国内外对 AEs 在很多领域的使用进行了限制。中国在饮用水卫生标准中规定,DEHA 含量不得超过 0.4 mg/L^[8]。欧盟 2011/10/EC 号指令规定 DEHA 在食品中的特定迁移量为 18 mg/kg。中国 GB 9685—2016 中规定 DEHA 和己二酸二辛酯在食品中的特定迁移量都为 18.0 mg/kg。韩国在 2005 年 6 月禁止 DEHA 用于 PVC 食品保鲜膜中。中国于 2005 年 10 月 25 日,由国家质检总局发布 155 号公告,其中明确规定禁止在 PVC 食品保鲜膜中使用 DEHA^[9]。

随着经济的发展,特别是外卖餐饮行业的兴起,塑化

基金项目:福建省产品质量检验研究院科技项目(编号: KY201816A)

作者简介:黄永辉(1982—),男,福建省产品质量检验研究院工程师,硕士。E-mail: huangyonghui1982@163.com

收稿日期:2020-04-01

剂的污染情况不容乐观,甚至在牛奶、乳饮料、酸奶、婴幼儿奶粉中已被检测出含有邻苯二甲酸酯类塑化剂成分^[10-13]。婴幼儿配方奶粉是婴幼儿主要的营养来源,而婴幼儿本身的器官发育不完全,代谢排毒能力较差,因此婴幼儿配方奶粉的卫生安全显得尤其重要。“中国台湾塑化剂事件”让大家对邻苯二甲酸酯类塑化剂的危害引起了极大的重视,目前中国对食品中邻苯二甲酸酯类塑化剂开展了大量的监督抽检工作,特别是每个月都对全国婴幼儿配方奶粉的邻苯二甲酸酯类塑化剂进行抽检监测。婴幼儿配方奶粉的生产需要经过一系列复杂的过程,由于工艺和环境的因素,很可能被 AEs 污染,如使用了含有 AEs 的 PVC 软管进行奶源采集,环境中的粉尘,生产过程中的塑料管道,储存牛奶及奶粉的容器和包装,都有 AEs 迁移到奶粉中的风险。而目前中国还没有检测食品中 AEs 含量的相关标准或法规。对各类食品中 AEs 的检验方法和污染情况研究逐渐增多,然而 AEs 种类研究较少,最多不超过 5 种,大部分研究只针对 DEHA(已在水、方便面调味包、水产品、肉类食品等各类食品中检测出 DEHA^[11,14-20]),但未见检测婴幼儿配方奶粉中 AEs 含量的相关研究。研究拟从食品安全风险监测的角度出发,通过优化仪器和前处理条件,建立同位素稀释—气相色谱—质谱法检测婴幼儿配方奶粉中 8 种 AEs 残留量的分析方法,以期对监测婴幼儿配方奶粉中 AEs 污染情况提供技术支持。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

气相色谱—质谱联用仪:7890N/5977 型,美国 Agilent 公司;

超纯水纯化系统:Milli-Q 型,美国 Millipore 公司;

分析天平:BT224S 型,德国 Sartorius 公司;

旋涡混匀器:XH-B 型,江苏康健医疗用品有限公司;

己二酸二甲酯(DMA)、己二酸二正丁酯(DBA)、己二酸二(乙基己基)酯(DEHA):德国 Dr.Ehrenstorfer 公司;

己二酸二乙酯(DEA)、己二酸二异丁酯(DIBA)、己二酸二(2-丁氧基乙)酯(BBOEA)、己二酸二(1-丁基戊基)酯(BBPA)、己二酸二正辛酯(DNOA)、己二酸二(2-乙基己)酯-d₄(DEHA-d₄):德国 Sigma 公司;

其余试剂:色谱纯或重蒸分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 玻璃器皿处理

所用的刻度玻璃器皿洗净后,用重蒸水淋洗 3 次,丙酮浸泡 1 h,正己烷淋洗,晾干备用。其他玻璃器皿洗净后,用重蒸水淋洗 3 次,丙酮浸泡 1 h,200 °C 下烘烤 2 h。

1.3 色谱质谱条件

色谱柱:ZB-5MS 弹性石英毛细管色谱柱(30.0 m×

0.25 mm×0.25 μm);进样口温度 280 °C;分流进样,且分流比为 5:1,进样体积 1 μL;升温程序:起始温度 60 °C,保持 1 min,以 20 °C/min 升至 220 °C,再以 5 °C/min 升至 280 °C,保持 15 min。载气:高纯 He(>99.999%),载气流速 1.0 mL/min。EI 离子源温度 230 °C;能量 70 eV;四极杆温度 150 °C;传输线温度 280 °C。溶剂延迟时间 6 min;在分析过程中质谱采用 SIM 模式分段扫描。8 种 AEs 和内标化合物保留时间、定量和定性选择离子见表 1。

1.4 标准溶液的制备

分别准确称取适量 8 种 AEs 标准品于 25 mL 容量瓶中,以正己烷溶解并定容至刻度,配制成浓度为 34.3~1 137.0 μg/mL 的标准储备液。准确移取适量标准储备液于 25 mL 容量瓶中,并以正己烷稀释定容至刻度,配制成 8 种 AEs 混合标准溶液,于冰箱中 0~4 °C 保存备用。准确称取 DEHA-d₄ 氘代内标于 25 mL 容量瓶中,以正己烷溶解并定容至刻度,配制成内标储备液,于冰箱中 0~4 °C 保存备用。准确吸取适量内标储备液于 25 mL 容量瓶中,用正己烷定容,配制成内标中间液。然后在配制 8 种 AEs 系列标准溶液过程中准确吸取适量体积的内标中间液。

1.5 样品处理

准确称取奶粉样品 1 g(精确至 0.000 1 g)于 25 mL 具塞比色管中,并加入 40 μL DEHA-d₄ 内标物溶液,加 3 mL 蒸馏水并涡旋 30 s,待样品充分溶解后,准确加入 10 mL 正己烷,涡旋 30 s 萃取,再超声 30 min,静置分层后,将上清液置于离心管中并以 15 000 r/min 离心 3 min,取上清液至进样瓶中用于 GC-MS 测定。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

AEs 是一类极性较弱的化合物,待分离化合物沸点

表 1 8 种 AEs 和内标化合物保留时间、定量和定性选择离子

Table 1 Retention time, quantitative ions and qualitative ions of 8 AEs and internal standard compound

化合物	保留时间/min	定量离子	定性离子
DMA	6.120	59	101,111,114
DEA	7.048	111	128,157,101
DIBA	8.860	129	185,111,101
DBA	9.351	129	185,111,101
BBOEA	13.923	155	101,111,173
DEHA	15.165	129	111,147,101
DEHA-d ₄	15.165	134	115,151,105
BBPA	15.703	129	111,147,101
DNOA	17.092	129	241,111,101

相差较大(110~405 ℃),通常采用程序升温进行分离。目前相关研究和标准绝大部分都采用固定相为 5% 苯基+95% 聚二甲基硅氧烷的毛细管色谱柱进行分析。试验表明,8 种 AEs 使用 ZB-5MS 石英毛细管柱时,通过优化升温程序具有良好的响应和分离度,故将其作为试验用色谱柱。进样口温度主要由待分析的目标化合物的沸点范围决定,同时还应该考虑色谱柱使用温度。在设置进样口温度时,通常接近样品中最高沸点组分的沸点,但要低于容易发生热分解组分的分解温度。8 种 AEs 沸点高,进样口温度低不利于汽化。选择进样口温度 200, 220,240,260,280,300 ℃ 进行试验,发现随温度的升高,大部分化合物峰面积并没有明显变化,与 280 ℃ 和 300 ℃ 时峰面积基本一致。考虑到温度过高会导致进样口的橡胶垫圈老化,残渣很容易落入色谱柱并污染色谱。因此,进样口温度设定为 280 ℃。色谱条件建立好后使用 SIM 扫描模式,8 种 AEs 标准品的总离子流图见图 1。

2.2 前处理条件的确定

AEs 在有机溶剂中具有良好的溶解性。结合当前研究,奶粉基质中增塑剂的提取溶剂最常用的是正己烷和乙腈,乙腈为蛋白质沉淀剂,作为提取溶剂时可减少奶粉出现乳化现象对图谱的干扰,且乙腈为极性溶剂可与水

互溶,便于提取;正己烷为非极性溶剂,可与水相形成稳定的分层,有利于除去一些亲水性杂质,对于目标提取物的提取更为准确。试验采用样品加水溶解后,直接加入提取溶剂涡旋振荡和超声提取的前处理方法,比较了常用溶剂如正己烷、丙酮、乙酸乙酯、甲醇和乙腈的提取效果。结果表明,以正己烷为萃取溶剂,萃取效果最好,8 种己二酸酯类化合物的回收率可达 90%。因此,试验前处理方法使用正己烷作为提取溶剂。不同溶剂提取效率见图 2。

2.3 技术指标

2.3.1 方法线性、检出限和定量限 按试验优化的仪器条件对 8 种 AEs 的混合标准系列溶液进行分析。以目标化合物浓度与内标浓度比值作为 X 轴,以目标化合物与内标的峰面积比值作为 Y 轴进行线性回归,得出线性回归方程。依照国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)的定义,以信噪比 $S/N > 3$ 为检出限, $S/N > 10$ 为定量限,按称样 1.0 g,定容 10 mL,计算方法检出限和定量限。各组分在两个数量级线性范围内线性关系良好,相关系数 $R^2 > 0.999$,检出限为 0.08~0.12 mg/kg,定量限为 0.2~0.4 mg/kg(见表 2)。

2.3.2 方法回收率和精密度 选用空白样品,并根据试

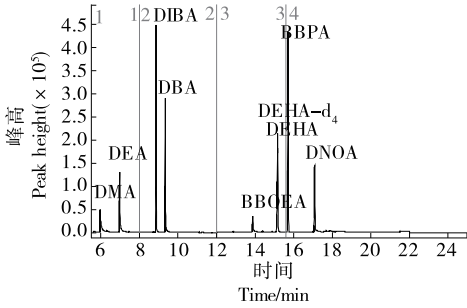


图1 8种 AEs 标准物质总离子流图
Figure 1 Total ion chromatogram of 8 AEs standards

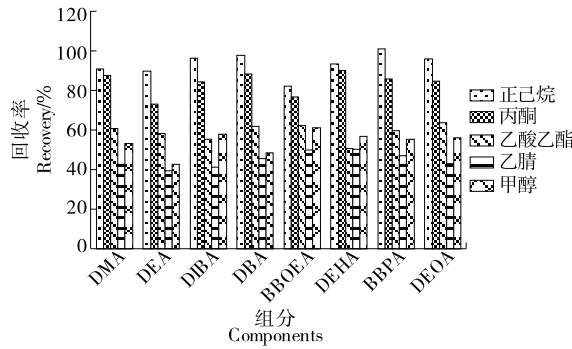


图2 不同溶剂提取效率
Figure 2 Extraction efficiency of different solvents

表 2 8 种 AEs 线性范围、线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantitation of 8 AEs

化合物	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回归方程	相关系数	检出限/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
DMA	0.027 4~4.38	$y=2.56 \times 10^{-1}x+4.08 \times 10^{-2}$	0.999 95	0.12	0.4
DEA	0.025 1~4.02	$y=3.75 \times 10^{-1}x+1.66 \times 10^{-2}$	0.999 98	0.12	0.4
DIBA	0.012 6~4.20	$y=7.69 \times 10^{-1}x-5.39 \times 10^{-2}$	0.999 90	0.08	0.2
DBA	0.011 1~4.43	$y=4.80 \times 10^{-1}x-3.77 \times 10^{-2}$	0.999 88	0.08	0.2
BBOEA	0.025 0~4.23	$y=1.70 \times 10^{-1}x-1.84 \times 10^{-2}$	0.999 72	0.12	0.4
DEHA	0.010 1~4.03	$y=9.86 \times 10^{-1}x+6.04 \times 10^{-2}$	0.999 81	0.08	0.2
BBPA	0.011 4~4.55	$y=2.07x-2.78 \times 10^{-1}$	0.999 70	0.08	0.2
DNOA	0.010 0~4.00	$y=7.70 \times 10^{-1}x+1.73 \times 10^{-1}$	0.999 92	0.08	0.2

验建立的方法在 3 种不同添加浓度的水平,每个水平浓度 6 个平行,计算回收率和相对标准偏差。各组分平均回收率在 96.2%~103.3%,相对标准偏差在 3.2%~8.1%。结果表明,该方法的回收率和相对标准偏差均具有较好的准确度和精密度,满足分析要求。8 种 AEs 添加回收率和相对标准偏差见表 3。

2.4 实际样品检测

用建立好的方法对不同阶段的婴幼儿配方奶粉共 56 个批次(1 段奶粉 19 罐,2 段奶粉 18 罐,3 段奶粉 19 罐)中 8 种 AEs 含量进行了检测分析。结果表明,随机抽取的 56 个样品中 8 种 AEs 均未被检出。图 3 为代表性实际样品选择离子图。

表 3 空白样品中 8 种 AEs 添加回收率和相对标准偏差

Table 3 Recoverys and relative standard deviation of 8 AEs for blank samples

化合物	加标浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	平行试验回收率/%						平均回收率/ %	相对标准偏差/ %
		1	2	3	4	5	6		
DMA	0.043 8	100.9	102.7	99.3	104.0	92.3	103.0	101.4	5.2
	0.087 6	99.3	98.9	98.9	89.6	106.5	103.2		
	0.219 0	105.2	109.0	99.3	96.6	109.9	105.9		
DEA	0.040 2	101.0	103.8	103.7	101.7	104.7	97.0	101.5	6.7
	0.080 4	95.4	86.5	86.5	104.1	102.4	106.7		
	0.201 0	103.0	100.2	107.2	114.1	102.7	107.4		
DIBA	0.042 0	98.3	90.7	92.5	96.7	98.0	93.4	96.2	8.1
	0.084 0	109.9	108.9	102.9	85.2	84.6	104.2		
	0.210 0	87.9	88.8	88.9	102.8	102.7	94.8		
DBA	0.044 3	96.3	99.6	102.0	102.2	90.5	99.9	97.3	6.8
	0.088 6	96.9	86.3	86.3	88.2	101.6	104.2		
	0.221 5	106.0	88.3	100.4	105.1	95.8	101.4		
BBOEA	0.042 3	93.2	94.0	100.9	102.4	94.1	103.1	101.8	6.1
	0.084 6	101.6	101.5	101.5	118.1	107.8	107.3		
	0.211 5	105.8	98.7	108.5	97.7	97.1	98.4		
DEHA	0.040 3	94.8	95.3	100.8	100.6	104.9	103.8	103.3	4.6
	0.080 6	106.4	108.5	108.5	108.4	106.5	109.8		
	0.201 5	104.8	104.8	103.7	97.2	96.6	104.8		
BBPA	0.045 5	103.2	100.6	100.9	86.7	94.7	102.3	94.8	6.6
	0.091 0	97.8	93.3	93.3	94.8	97.3	88.3		
	0.227 5	84.3	90.6	98.7	82.9	93.9	102.3		
DNOA	0.045 5	94.0	100.4	102.3	103.1	101.2	102.6	102.1	3.2
	0.091 0	100.8	103.4	103.4	98.2	105.5	101.4		
	0.227 5	96.8	105.0	106.4	104.8	106.7	101.9		

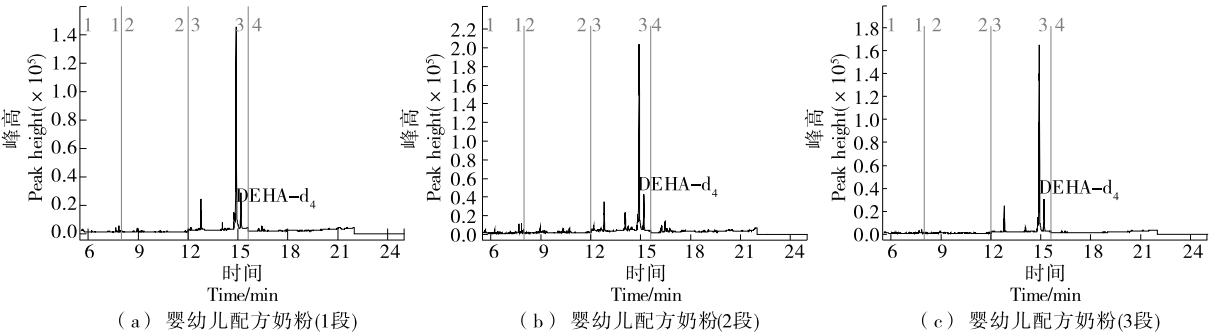


图 3 实际样品总离子流图

Figure 3 Total ion chromatogram of real samples

3 结论

试验通过优化色谱条件、质谱条件和前处理条件,建立了同位素稀释—气相色谱—质谱法测定婴幼儿奶粉中8种己二酸酯类塑化剂含量的方法。该方法采用正己烷作为提取溶剂,超声提取法萃取,内标法定量。而采用超声提取可以实现快速、高效、低耗能,具有操作简单、方便、易于实施等特点。经添加回收的方式考察了方法的准确度和精确度,结果表明,试验建立的检测方法回收率高、重现性好、灵敏度高、能够快速实现,适用于婴幼儿配方奶粉中己二酸酯类塑化剂含量的分析测定。

参考文献

- [1] 崔海波. 塑化剂己二酸二丁酯的合成现状和发展[J]. 西部皮革, 2016, 38(6): 24.
- [2] 李沂濛, 史建公, 张毅, 等. 聚氯乙稀耐寒增塑剂(DOA)的市场需求分析[J]. 工业技术创新, 2015, 2(2): 155-159.
- [3] 刘俊, 朱然, 田延河, 等. 气相色谱—质谱法对食品包装材料中邻苯二甲酸酯类与己二酸酯类增塑剂的同时测定[J]. 分析测试学报, 2010, 29(9): 943-947.
- [4] 吴景武, 张伟亚, 刘丽, 等. 气相色谱—质谱法测定 PVC 食品保鲜膜中 DEHA 等己二酸酯类增塑剂[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(7): 817-818.
- [5] 陈伟, 马满英, 周鹏, 等. 塑料瓶装食醋中塑化剂的检测及其毒性分析[J]. 绿色科技, 2018(8): 130-132.
- [6] 马腾洲, 周宇艳, 张琳. 己二酸酯类增塑剂向橄榄油中迁移量的测定方法[J]. 沈阳航空航天大学学报, 2011, 28(4): 92-94.
- [7] SILVA M J, SAMANDAR E, YE Xiao-yun, et al. In vitro metabolites of di-2-ethylhexyl adipate (DEHA) as biomarkers of exposure in human biomonitoring applications[J]. Chemical Research in Toxicology, 2013, 26(10): 1 498-1 502.
- [8] 金银龙, 鄂学礼, 陈昌杰, 等. GB 5749—2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006: 5.
- [9] 陈志锋, 孙利, 雍炜, 等. 溶解沉淀—气相色谱法测定聚氯乙烯食品保鲜膜中增塑剂己二酸二(2-乙基)己酯(DEHA)含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(7): 772-774.
- [10] FIERENS T, HOLDERBEKE M V, WILLEMS H, et al. Phthalates in Belgian cow's milk and the role of feed and other contamination pathways at farm level[J]. Food and Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2012, 50(8): 2 945.
- [11] JIA Wei, CHU Xiao-gang, LING Yun, et al. Analysis of phthalates in milk and milk products by liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap high-resolution mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2014 (1 362): 110-118.
- [12] 黄永辉. SPE-GC-MS 法同时测定奶粉中 18 种邻苯二甲酸酯迁移量[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(11): 167-171.
- [13] 康莉, 廖仕成, 陈裕华, 等. 婴幼儿奶粉中邻苯二甲酸酯的迁移残留分析[J]. 中国乳品工业, 2014, 42(6): 41-43.
- [14] 单晓梅, 沈登辉, 陆蓓蓓, 等. 固相萃取—气质联用法测定水中己二酸酯类增塑剂[J]. 环境卫生学杂志, 2013, 3(1): 53-59.
- [15] 蔡艳, 赵家青, 贺小雨, 等. 食用油中邻苯二甲酸酯和己二酸酯的 GC-MS 定量分析与迁移特性研究[J]. 食品科学, 2014, 35(12): 191-195.
- [16] 伍竞成, 方从容, 荫硕焱, 等. 同位素稀释—气相色谱—质谱法测定方便面调味料中 DEHA 和 16 种 PAEs 类增塑剂[J]. 分析实验室, 2015, 34(2): 146-150.
- [17] ANTONIOS E G, ELISAVET S, MICHAEL G K. Di(2-ethylhexyl) adipate migration from PVC-cling film into packaged sea bream (*Sparus aurata*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets: Kinetic study and control of compliance with EU specifications[J]. European Food Research and Technology, 2008, 226(4): 915-923.
- [18] 焦逊, 赵鹏, 徐龙华, 等. PVC 保鲜膜中 DEHP 和 DEHA 向猪肉中迁移规律研究[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(4): 55-60.
- [19] FASANO E, CIRILLO T, ESPOSITO F, et al. Migration of monomers and plasticizers from packed foods and heated microwave foods using QuEChERS sample preparation and gas chromatography/mass spectrometry[J]. LWT-Food Science and Technology, 2015(64): 1 015-1 021.
- [20] ANTONIOS E G, PANAGIOTA Z, ANDREAS K, et al. Migration of di(2-ethylhexyl) adipate and acetyl tributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehneh): Kinetic and penetration study[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007(45): 585-591.
- [12] YU Hai-dong, YUN Yong-huan, ZHANG Wei-min, et al. Three-step hybrid strategy towards efficiently selecting variables in multivariate calibration of near-infrared spectra[J]. Elsevier B V, 2020, 224: 1 386-1 425.
- [13] NØRGAARD L, SAUDLAND A, WAGNER J, et al. Interval partial least-squares regression (iPLS): A comparative chemometric study with an example from near-infrared spectroscopy[J]. SAGE Publications, 2000, 54(3): 413-419.
- [14] DENG Bai-chuan, YUN Yong-huan, MA Pan, et al. A new method for wavelength interval selection that intelligently optimizes the locations, widths and combinations of the intervals[J]. The Analyst, 2015, 140(6): 1 876-1 885.
- [15] YUN Yong-huan, WANG Wei-ting, TAN Min-li, et al. A strategy that iteratively retains informative variables for selecting optimal variable subset in multivariate calibration[J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 807: 36-43.
- [16] KENNARD R W, STONE L A. Computer aided design of experiments[J]. Technometrics, 1969(11): 137-148.

(上接第 76 页)