

气相色谱测定食品中酞酸酯类化合物的方法研究

张前龙, 周子荣, 曹云, 王宇, 杨佩丽

摘要: [目的] 探讨食品中 5 种常见酞酸酯类环境污染物的气相色谱测定方法。[方法] 采用有机溶剂超声提取、中性氧化铝柱过柱净化和氮吹浓缩的前处理技术, 用气相色谱-氢火焰离子化检测器(GC-FID)测定。[结果] 5 种酞酸酯类化合物(PAEs)取得较好分离效果, 标准曲线的相关系数均大于 0.999, 平均加标回收率为 82.0%~101.0%, 相对标准偏差(RSD)为 2.8%~7.3%, 方法最低检出限为 2.0~8.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。[结论] 该方法操作简便快捷、经济、灵敏度高, 适用于一般实验室开展日常食品监测和检测。

关键词: 酞酸酯; 气相色谱; 食品

Study on an Approach to Determining Phthalate Esters in Foods by Gas Chromatography ZHANG Qian-long, ZHOU Zi-rong, CAO Yun, WANG Yu, YANG Pei-li (Department of Physical Chemistry Laboratory, Huangpu District Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200011, China)

Abstract: [Objective] To develop an approach to determining five common environment-polluted phthalate esters (PAEs) in foods by gas chromatography (GC). [Methods] After extracted from organic solvent by ultrasonic, cleaned by Alumina N column and concentrated by nitrogen, PAEs in the samples were determined by gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID). [Results] Five PAEs were well-separated from each other. The study showed the correlation coefficients between them were all above 0.999; the average spike recovery rates and the relative standard deviations (RSDs) were in the range of 82.0% to 101.0% and 2.8% to 7.3% respectively; the limits of detection (LODs) were between 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 8.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$. [Conclusion] The approach was found simple, convenient, economic, sensitive, and applicable to everyday monitoring and inspection of foods for laboratories.

Key Words: phthalate esters(PAEs); gas chromatography(GC); foods

邻苯二甲酸酯(酞酸酯)类化合物(PAEs)是一种增塑剂, 常用在塑料制品中。由于其添加量大且不以共价键形式与树脂结合, 在适当条件下, 可不断地向周围环境释放^[1-2], 造成对土壤、水体、食物等广泛的污染, 并通过生物富集和食物链侵入人体, 造成潜在危害。PAEs 被中国环境检测总站和美国环境保护署(EPA)列为优先控制污染物^[3]。从 2008 年 6 月 1 日起, 我国大陆实行了塑料袋部分品种的有偿使用制度, 表明政府对塑料制品“白色污染”问题的高度重视。

目前, 国内、外关于 PAEs 在环境中分布的研究较为深入, 但对通过各种途径污染食品的现象还没有足够重视。食品中的 PAEs 除来自加工原料外, 加工器械和包装材料中的 PAEs 在接触到食品中所含的水、油脂等或受热、振荡时, 便会溶出进入到食品中, 如食用油包装材料中的增塑剂会溶移到食用油中^[4], 而且其中的 PAEs 含量越高, 可能被溶出的数量越多^[5], 成为食品 PAEs 的主要来源之一。近年来, 气相色谱法、液相色谱法已广泛应用于环境介质中的 PAEs 分析^[6-8], 而食品中的检测方法研究相对较少, 且多采用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)进行测定^[9], 该设备昂贵, 成本高, 很难在基层实验室推广应用。当前, 上海市 19 个区(县)疾病预防控制中心实验室气相色

谱仪(配氢火焰离子化检测器, GC-FID)平均配置率为 2.84 台/单位, 而 GC-MS 总共仅有 6 台, 因此, 建立适于基层实验室食品中 PAEs 的测定方法是非常必要的。本研究拟采用 GC-FID 测定塑料包装食品中的 PAEs, 探讨在提取、分析方面的条件优化, 以满足基层实验室日常检测工作的需求。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

6890N 型气相色谱仪, 配氢火焰离子化检测器(FID)(美国 Agilent 科技有限公司); N-EVAP111 型氮吹仪(美国 Organomation 公司); 中性氧化铝固相萃取小柱(天津博纳艾杰尔科技有限公司); 纯水系统(美国 Millipore 公司)。

邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl o-phthalate, DBP)、邻苯二甲酸(2-乙基己基)酯[di-(2-ethylhexyl)-o-phthalate, DEHP]、邻苯二甲酸二正辛酯(dioctyl phthalate, DOP)、邻苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)、邻苯二甲酸二甲酯(dimethyl-o-phthalate, DMP)、正己烷、二氯甲烷、乙醚、乙酸乙酯均为色谱纯, 购自国药集团化学试剂有限公司; 水为超纯水。

1.2 气相色谱条件

色谱柱: HP-5 型石英毛细管柱(美国 Agilent 科技有限公司), 30.0m(柱长) $\times$ 320 μm (内径) $\times$ 0.25 μm (膜厚); 色谱柱温度: 初温 60 $^{\circ}\text{C}$ (保持 1 min), 升温速度 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 220 $^{\circ}\text{C}$, 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$ (保持 4 min); 检测器温度 300 $^{\circ}\text{C}$, 空气流速 400 mL/min, 氢气 40 mL/min, 尾吹气 30 mL/min; 进样口温度

[基金项目] 上海市卫生局青年科研项目基金(编号: 2006Y060); 黄浦区卫生事业发展奖励基金(编号: HWY-06151)

[作者简介] 张前龙(1979-), 男, 硕士, 检验师; 研究方向: 卫生理化检验; E-mail: zhangql7989@gmail.com

[作者单位] 上海市黄浦区疾病预防控制中心理化检验科, 上海 200011

280℃, 不分流进样, 进样量 1 μL; 柱流速: 氮气 2.0 mL/min; 定量方法: 峰面积外标法定量。

1.3 测定步骤

样品来源于市售塑料真空包装食品, 称取食品均质样 3 g 左右于 100 mL 锥形瓶中, 加入 20 mL 正己烷-二氯甲烷(体积比为 1:1)混合提取剂, 浸泡 30 min 后超声提取 30 min, 提取液过滤(加入适量无水硫酸钠除水), 残渣用 20 mL 正己烷-二氯甲烷混合提取剂超声提取 30 min, 合并两次提取液, 用氮吹浓缩至 1.0 mL。中性氧化铝柱过柱净化: 先用 3.0 mL 正己烷活化小柱, 将 1.0 mL 提取液全部上样, 用 5.0 mL 乙酸乙酯-二氯甲烷(体积比为 2:3)混合液洗脱, 收集洗脱液, 氮气吹干, 残渣用 1.0 mL 正己烷溶出后备用。按照上述前处理方法和“1.2”的气相色谱条件, 检测市售 19 种塑料真空包装食品中的 PAEs, 每个样品平行测定 3 次。

为避免玻璃器皿表面的污染, 全部实验用玻璃器皿均用超声波仔细清洗后, 依次用自来水、蒸馏水冲洗, 再置于 120℃ 烘箱中烘干。使用前用正己烷淋洗两次。杜绝使用塑料制品。

1.4 方法学验证

1.4.1 定性分析 按照“1.2”确定的分析条件, 对 5 种 PAEs 混合标准溶液进样测定, 以保留时间作为定性依据。

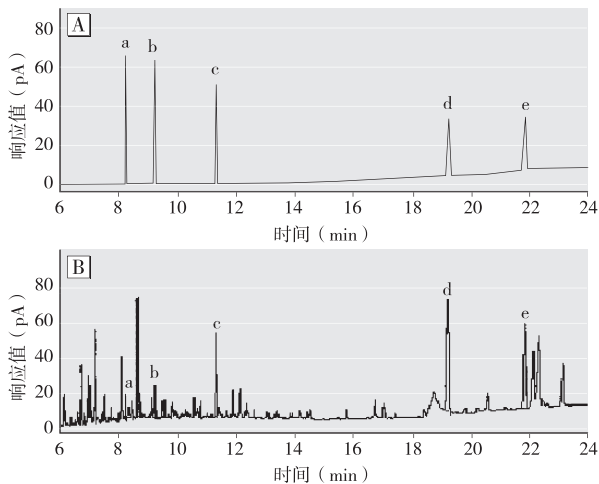
1.4.2 线性与检出限 分别准确吸取一定量的标准物质, 用正己烷配制成系列标准混合溶液, 在“1.2”的条件下用气相色谱仪进行分析, 以峰面积对溶液浓度作标准曲线。根据 3 倍信噪比结合检测方法计算出检出限。

1.4.3 回收率与精密度 用正己烷、二氯甲烷、乙醚、二氯甲烷-正己烷(体积比为 1:1)4 种提取剂, 对加入了标准混合溶液(2.0 μg/g)的烤肠样品按“1.3”的操作步骤进行提取效果实验。取 2 份烤肠样品, 在高、低 2 个浓度水平进行加标回收实验, 每个浓度水平加标样品按“1.3”的操作步骤在同一条件下进行 6 次实验, 计算相对标准偏差(RSD)。

2 结果

2.1 定性分析

由标准溶液和加标样品溶液色谱图(图 1)可见, 5 种化合物得到了很好的分离。



[注] a: DMP; b: DEP; c: DBP; d: DEHP; e: DOP。

图 1 标准溶液(A)和加标样品溶液(B)色谱图

2.2 线性与检出限

5 种 PAEs 增塑剂在 0.10~10.00 mg/L 浓度范围内线性关系良好, 其相关系数(r)均 > 0.999, 检出限为 2.02~8.61 μg/kg, 可以作为本次实验定量分析依据, 见表 1。

表 1 线性与检出限测定结果

酞酸酯	保留时间 (min)	线性回归方程	相关系数 (r)	线性范围 (mg/L)	检出限 (μg/kg)
DMP	8.26	$\hat{y}=16.2X+0.68$	0.99998	0.111~11.100	6.07
DEP	9.22	$\hat{y}=17.0X+0.55$	1.00000	0.107~10.700	8.61
DBP	11.30	$\hat{y}=19.4X+0.92$	0.99998	0.104~10.400	7.79
DEHP	19.20	$\hat{y}=21.7X+1.38$	0.99993	0.095~9.500	4.71
DOP	21.80	$\hat{y}=22.3X+1.19$	0.99996	0.095~9.500	2.02

[注] X 为提取液中邻苯二甲酸酯的质量浓度 (mg/L); $\hat{y}$ 为色谱峰面积。

2.3 回收率与精密度实验

4 种提取剂的提取效果实验结果表明, 二氯甲烷-正己烷(体积比为 1:1)混合提取剂对 5 种 PAEs 的加标回收率最高(表 2), 故确定其作为食品样品的提取剂。用二氯甲烷-正己烷(体积比为 1:1)混合提取剂对烤肠样品在高、低 2 个浓度水平进行加标回收实验, 经测定本方法的平均加标回收率为 82.0%~101.0%, RSD 为 2.8%~7.3%, 可以满足食品中 PAEs 环境污染物分析要求^[10], 见表 3。

表 2 加入标准混合溶液(2.0 μg/g)的烤肠样品不同提取剂时 PAEs 的加标回收率($n=3$, %)

酞酸酯	正己烷	二氯甲烷	乙醚	二氯甲烷-正己烷(体积比为 1:1)
DMP	73.4	76.1	69.2	86.6
DEP	68.1	75.4	68.6	79.5
DBP	90.1	86.2	84.1	89.9
DEHP	92.5	90.8	81.7	95.0
DOP	86.0	82.6	79.3	92.3

表 3 回收率与精密度实验结果($n=6$)

酞酸酯	加标量 (μg/g)	本底值 (μg/g)	平均回收值 (μg/g)	平均加标回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
DMP	0.740	0.259	0.893	85.8	7.3
	1.480		1.470	82.0	5.6
DEP	0.713	0.125	0.714	82.6	4.1
	1.430		1.330	84.1	3.7
DBP	0.693	1.150	1.790	91.9	3.3
	1.390		2.460	94.3	3.9
DEHP	0.633	1.230	1.860	99.8	6.2
	1.270		2.510	101.0	5.4
DOP	0.633	—	0.605	95.6	4.5
	1.270		1.250	98.7	2.8

[注] —: 未检出。

2.4 塑料真空包装食品中 PAEs 的含量

19 种塑料真空包装食品检测结果见表 4, 除 DOP 未检出外, DMP、DEP、DBP 和 DEHP 的检出率分别为 78.9%、78.9%、100.0% 和 100.0%, 含量为百万分之一(ppm)水平, 且 DBP 和 DEHP 在 19 种包装食品的样品中全部检出。19 种食品相对应的包装材料中除 DOP 检出率较低(21.1%), 其余 4 种 PAEs 检出

率均达 100%, DMP、DEP、DBP、DEHP 和 DOP 的含量分别为 0.023~0.800、0.013~0.565、2.78~9.45、3.13~23.3、未检出 (ND)~0.938 μg/g。

表 4 塑料真空包装食品中 PAEs 的含量分布 (μg/g) ($\bar{x} \pm s$, n=3)

序号	样品	DMP	DEP	DBP	DEHP	DOP
1	热狗肠	0.027 ± 0.002	0.007 ± 0.001	3.21 ± 0.116	1.13 ± 0.066	—
2	麻辣肠	—	—	2.75 ± 0.099	1.24 ± 0.072	—
3	牛肉火腿	0.042 ± 0.003	0.035 ± 0.001	2.96 ± 0.107	1.86 ± 0.108	—
4	红培根	0.025 ± 0.002	0.060 ± 0.002	2.86 ± 0.103	2.88 ± 0.167	—
5	薰圆腿	0.026 ± 0.002	0.086 ± 0.003	2.36 ± 0.085	1.12 ± 0.065	—
6	烤通脊	0.202 ± 0.013	0.080 ± 0.003	1.83 ± 0.066	0.950 ± 0.055	—
7	香肠	0.057 ± 0.004	0.117 ± 0.005	1.15 ± 0.041	4.10 ± 0.238	—
8	烤嫩肠	0.192 ± 0.102	0.125 ± 0.005	3.15 ± 0.113	2.10 ± 0.122	—
9	农家香肠	—	—	3.02 ± 0.109	2.58 ± 0.150	—
10	香焗猪肚	0.012 ± 0.001	—	2.14 ± 0.077	0.515 ± 0.030	—
11	香焗鸭肫	0.010 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.639 ± 0.023	0.371 ± 0.022	—
12	热糟轩鸡	0.329 ± 0.021	0.047 ± 0.002	1.40 ± 0.050	0.727 ± 0.042	—
13	风鸡	0.017 ± 0.001	0.024 ± 0.001	2.13 ± 0.078	1.34 ± 0.078	—
14	酱汁牛肉	0.118 ± 0.008	0.003 ± 0.002	2.01 ± 0.072	1.16 ± 0.067	—
15	卤鼻冲	0.128 ± 0.008	0.006 ± 0.001	1.80 ± 0.065	1.26 ± 0.073	—
16	火腿蹄膀	0.049 ± 0.003	0.124 ± 0.005	0.829 ± 0.030	0.967 ± 0.056	—
17	串味腊肉	—	0.028 ± 0.001	1.19 ± 0.043	1.00 ± 0.058	—
18	腊肉	—	—	1.22 ± 0.044	0.264 ± 0.015	—
19	烤肠	0.259 ± 0.017	0.125 ± 0.005	1.15 ± 0.041	1.23 ± 0.071	—

[注]—: 未检出。

3 讨论

PAEs 广泛存在于各种食品中, 已经成为一种全球性的食品和环境有机污染物。食品的组成复杂, 对其中的微量及痕量物质的分析难度很大。本实验在前处理过程中采用中性氧化铝柱净化, 用常规的 GC-FID 进行测定, 结果表明其线性范围、回收率、精密度等各项指标均较好。该方法操作简单、经济实用、灵敏度高, 可以适用于基层实验室开展日常食品监测和检测。本方法测定食品中 PAEs 的含量水平, 与郑力行等^[11]用高效液相色谱法测定水产品中的 PAEs 结果以及蔡智鸣等^[12]用 GC-MS 法测定畜、禽内脏食品中 PAEs 的结果基本吻合。

19 种被测定的包装食品中, DBP 和 DEHP 全部检出且含量相对较高, 而 DOP 均未检出, 这与其相应塑料包装材料中 PAEs 的检出情况基本一致。19 种食品包装材料中除 DOP 检出率较低 (21.1%), 其余 4 种包装材料中的 PAEs 检出率均达 100%, 且 DBP (2.78~9.45 μg/g) 和 DEHP (3.13~23.3 μg/g) 含量也较高。这也与 DBP 和 DEHP 是塑料制品主要使用的增塑剂的现实状况相吻合。由此可见, 包装食品用的塑料包装材料中的

PAEs 对被包装食品的污染状况不容乐观, 更不可忽视。

在本研究的 19 种塑料真空包装食品样品的测定结果中发现, 包装食品中某些 PAEs 的含量远超过我国《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)^[13]中的限值 (DEHP < 0.008 mg/L; DBP < 0.003 mg/L; DEP < 0.3 mg/L), 揭示了用塑料包装材料包装的食品受污染的严重性, 人群长期食用此类包装食品可能构成潜在的远期危害。因此, 加强用塑料包装材料包装的食品中环境污染物 PAEs 的监测和预警是非常重要的也是非常必要的。

参考文献:

[1] WHO/IPCS. Environmental health criteria 131, di-2-ethyhexyl phthalate[M]. Geneva: World Health Organization, 1992.

[2] WHO/IPCS. Environmental health criteria 189, di-n-butyl phthalate [M]. Geneva: World Health Organization, 1997.

[3] 董夫银, 闫杰. 欧盟及美国禁用邻苯二甲酸酯的法规及其出台始末[J]. 检验检疫科学, 2006, 16(3): 78-80.

[4] 杨科峰, 厉曙光, 蔡智鸣. 食用油及其加热产物中酞酸酯类增塑剂的分析[J]. 环境与职业医学, 2002, 19(1): 37-39.

[5] BIEDERMANN M, FISELIER K, GROB K. Injector-internal thermal desorption from edible oils. Part 1: visual experiments on sample deposition on the liner wall[J]. J sep Sci, 2005, 28(13): 1550-1557.

[6] 陈剑刚, 白艳玲, 谭爱军. 空气中酞酸酯类化合物的毛细管气相色谱测定法[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006, 24(1): 53-54.

[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] 张蕴辉, 陈秉衡, 郑力行, 等. 环境样品中邻苯二甲酸酯类物质的测定与分析[J]. 环境与健康杂志, 2003, 20(5): 283-286.

[9] 蔡晶, 柴丽月, 胡秋辉. 食品中邻苯二甲酸酯的检测及安全评价[J]. 食品科学, 2005, 26(12): 242-245.

[10] 中华人民共和国科学技术部. “十五”国家重大科技专项“食品安全关键技术”课题申报指南[EB/OL]. [2009-07-01]. <http://www.most.gov.cn/tztg/200208/P020060502816792171224.doc>

[11] 郑力行, 诸建辉, 张蕴辉, 等. 水产品中 3 种邻苯二甲酸酯类物质的测定[J]. 复旦学报: 医学版, 2003, 30(2): 158-160.

[12] 蔡智鸣, 王枫华, 赵文红, 等. 畜禽内脏食品中酞酸酯类环境污染物的测定[J]. 同济大学学报: 医学版, 2003, 24(5): 395-397.

[13] 中华人民共和国卫生部. GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.

(收稿日期: 2009-07-27)

(英文编审: 徐瑾真; 编辑: 郭薇薇; 校对: 徐新春)