

## 实验技术与方法

## 国标法检测食品中邻苯二甲酸酯空白值的分析探讨

杨欣, 刘卿, 苗虹, 范赛, 李鹏, 陈惠京, 周萍萍, 尚晓虹, 赵云峰, 吴永宁  
(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100021)

**摘要:**目的 了解国标方法检测食品中邻苯二甲酸酯类化合物的空白值并探讨其影响因素。方法 应用国标方法考察了溶剂及溶剂在 GPC 系统中滞留时间等因素对空白值的影响。结果 按国标方法, 常规操作状态下做系统空白分析, 未检测到 DMEP、BMPP、DEEP、DPP、DHXP、BBP、DBEP、DCHP、DPhP、DNOP、DNP、DINP; 检测到 DMP、DEP、DIBP、DBP、DEHP, 空白值均小于 10  $\mu\text{g/L}$ 。结论 溶剂和溶剂在 GPC 系统中的滞留时间是影响空白值的主要因素, 据此提出了降低空白值的建议。

**关键词:** 邻苯二甲酸酯; 增塑剂; 空白值; 国标方法 GB/T 21911—2008; 食品污染物

**中图分类号:** TS201.6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1004-8456(2012)03-0000-00

## Discussions on the blank value in the determination of phthalate acid esters in foods

Yang Xin, Liu Qing, Miao Hong, Fan Sai, Li Peng, Chen Huijing, Zhou Pingping,  
Shang Xiaohong, Zhao Yunfeng, Wu Yongning

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021, China)

**Abstract: Objective** Aiming at understanding the probable problem of high blank value in the determination of phthalate acid esters in foods. **Methods** The influential factors such as organic solvent, the immersed time of GPC system were analyzed carefully by GB/T 21911—2008. **Results** DMEP, BMPP, DEEP, DPP, DHXP, BBP, DBEP, DCHP, DPhP, DNOP, DNP, DINP were not detected, whereas DMP, DEP, DIBP, DBP, DEHP were detected, the blank values were lower than 10  $\mu\text{g/L}$ , respectively. **Conclusion** The main factors influencing the blank value were observed, therefore, measures on reducing the blank value were proposed.

**Key words:** Phthalate acid esters; plasticizer; blank value; GB/T 21911—2008; foods contaminants

邻苯二甲酸酯(phthalate acid esters, PAEs)是一种无色、无味的液体增塑剂,它也是世界卫生组织 1995 年公布的必须控制的一类扰乱内分泌的环境雌激素<sup>[1-4]</sup>。在饮料、果冻等食品的生产过程中,通常会添加食用乳化剂(中国台湾称为起云剂)以避免产品出现油水分层。生产食用乳化剂的常见原料是棕榈油或葵花油,由于邻苯二甲酸酯类增塑剂中的邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯[Bis(2-ethylhexyl)ortho-phthalate, DEHP]和棕榈油有非常相似的乳化和增稠效果,2011 年 5 月,在台湾地区发现不法商家为谋取暴利利用 DEHP 替代棕榈油生产食用乳化剂,导致一些使用了该商家生产的乳化剂的知名运动饮料、果汁和酵素饮品受到污染,造成极其恶劣的影响,此事件更加突显食品中邻苯二甲酸酯(尤其是 DEHP 成

分)监测工作的必要性和重要性。

由于邻苯二甲酸酯与塑料基质间未形成化学共价键,呈游离态,因此塑料制品中的邻苯二甲酸酯类增塑剂有可能随器皿、试剂、接触的介质而迁移溶出<sup>[5-7]</sup>,而塑料制品的使用非常广泛,为确保样品检测结果的准确性,应充分考虑样品检测过程中因实验设备、实验器皿及实验方法导致邻苯二甲酸酯迁入的可能性。尽管国内外有关食品中邻苯二甲酸酯的检测方法及相关研究较多<sup>[8-14]</sup>,但仍缺乏分析检测系统中邻苯二甲酸酯空白值的研究报道。鉴于邻苯二甲酸酯来源的复杂性,对于邻苯二甲酸酯检出含量较低的样品,难以做出充分科学的判定。依据我国 2008 年发布的国家标准 GB/T 21911—2008《食品中邻苯二甲酸酯的测定》<sup>[15]</sup>,专门考察了常规分析状态下使用 GB/T 21911—2008 检测邻苯二甲酸酯时的空白值及影响空白值的主要因素,并提出了减小空白值的方案。

收稿日期:2012-01-31

基金项目:卫生部公益性科研专项“食品安全应急与监测预警技术研究和应用”(200902009)

作者简介:杨欣 女 副研究员 研究方向为食品安全检测技术及标准化 E-mail: beijing-yangxin@163.com

## 1 材料与amp;方法

## 1.1 仪器与试剂

气相色谱-质谱联用仪:配有气相色谱仪(Varian 450-GC)的1200 L三重四极杆质谱仪(Varian, USA);离子源:ESI源;色谱柱:VF-5 ms柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)(Agilent, USA)。旋转蒸发仪;N<sub>2</sub>-浓缩仪(N-EVAP型,美国Analytical evaporator Associates公司);凝胶渗透色谱仪(GPC AccuPrep MPSTM,美国J2 Scientific公司);超纯水器;微量注射器;玻璃移液管。

丙酮、环己烷、乙酸乙酯(色谱纯);石油醚(30~60℃馏分,色谱纯);正己烷(农残级);无水硫酸钠(分析纯)。邻苯二甲酸酯混合标准溶液(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(2-甲氧基)乙酯(DMEP)、邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(BMPP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、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)、邻苯二甲酸二异壬酯(DINP);50 mg/L,溶剂为异辛烷,中国计量科学研究院);混合内标溶液(D<sub>4</sub>-DEP, D<sub>4</sub>-DPRP, D<sub>4</sub>-DBP, D<sub>4</sub>-DCHP, D<sub>4</sub>-DNOP;20 mg/L,溶剂为异辛烷,中国计量科学研究院);系列标准溶液:分别准确移取0、20、50、100、200和500 μl邻苯二甲酸酯标准溶液(1 mg/L)和10 μl混合内标溶液(20 mg/L),用正己烷稀释至1 ml,混匀后用铝箔纸隔离进样瓶盖密封,置-20℃冰箱中保存。

## 1.2 实验方法

参照GB/T 21911—2008《食品中邻苯二甲酸酯的测定》中5.2.2制备样品溶液,取10 μl混合内标溶液(20 mg/L),加入10 ml乙酸乙酯-环己烷(1:1),混匀,经GPC净化(见GB/T 21911—2008附录C),从5.5~16.5 min收集流出液共55 ml,减压旋转蒸发至近干,加1.0 ml正己烷复溶,待GC-MS分析。

### 1.2.1 气相色谱条件

色谱柱:VF-5ms石英毛细管色谱柱,柱长30 m,内径0.25 mm,膜厚0.25 μm;载气:高纯氮气,纯度≥99.999%,恒流模式,流速1.0 ml/min;进样口温度:250℃;升温程序:初温60℃,保持1 min,以20℃/min升至220℃,保持1 min,再以5℃/min升至280℃,保持10 min;进样方式:柱上不分流进样;进样量:1 μl;传输线温度:280℃。

### 1.2.2 质谱参考条件

电离方式:电子轰击源(EI);电离能量:70 eV;离子源温度:230℃;四级杆温度:150℃;溶剂延迟:5 min;扫描方式:选择离子扫描(SIM)。各邻苯二甲酸酯化合物的含量用内标法计算。保留时间、监测离子对及对应的内标物见表1。

## 2 结果与讨论

### 2.1 线性范围、检出限和回收率

在选定的实验条件下,各组分在10~500 μg/L范围内呈良好线性关系, $r > 0.999$ ,以 $S/N = 3:1$ 计算仪器方法的检出限在5~10 μg/L之间,平均回收率在78.89%~94.67%之间,相对标准偏差 $< 12.1%$ ,满足空白值定性定量分析需要,见表1。

### 2.2 背景值的考察

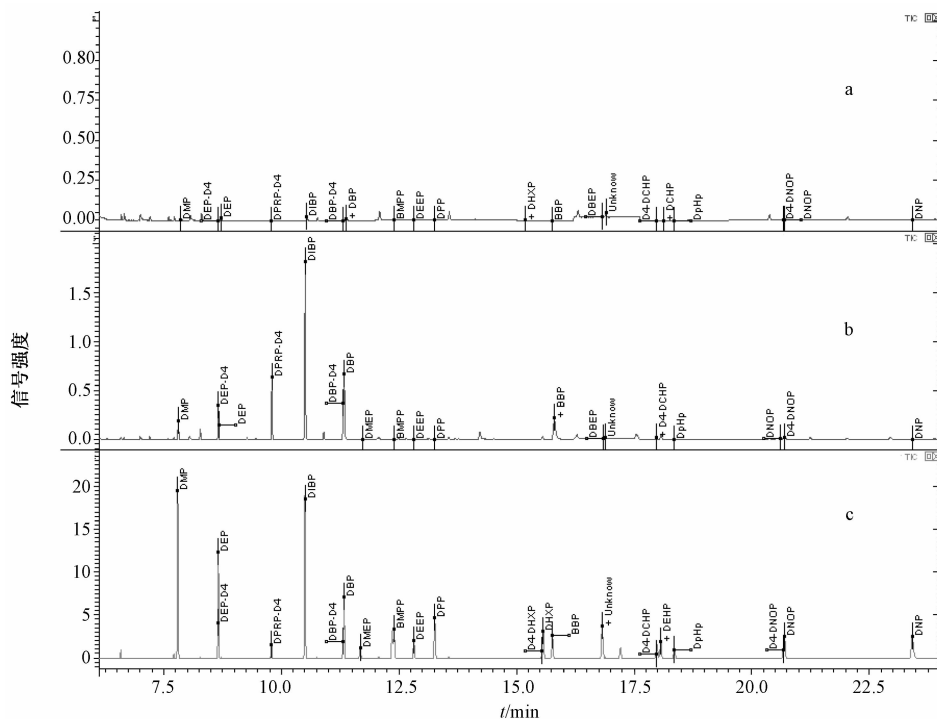
GB/T 21911—2008分析检测含油脂的样品是经乙酸乙酯和环己烷提取,凝胶渗透色谱法(gel permeation chromatography, GPC)净化后GC/MS检测,因此方法的空白值主要来自于溶剂和系统。过GPC后的馏分收集液的总体积为55 ml,这样大体积的溶剂经旋转浓缩后对空白值的影响是值得关注的因素之一,同时,GPC仪的管路、阀门等零部件多是与塑料有关的制品,为避免气泡进入GPC系统影响仪器的正常工作,在实际工作中,GPC的流动相通常充满整个管路系统中,因此除了溶剂自身的本底值以外,还可能因溶剂较长时间的浸泡导致管路中的邻苯二甲酸酯迁出而留存在系统中,随流动相最后进入样品检测系统。为了解空白值的来源情况,以正己烷(a)、混合内标经GPC净化(b)、内标和混合标准经GPC净化(c)三种方式分别进样,考察邻苯二甲酸酯的检出情况,结果见图1。正己烷是样品提取净化完成后上机前使用的复溶溶剂,由图1(a)可见,正己烷直接进样,有响应,但非常低,这表明小体积(1.0 ml)的复溶溶剂(正己烷)对空白值的贡献很小;由图1(b)可见,经过GPC系统净化后的空白值有明显增加,表明GPC系统和大体积(55 ml)馏分收集液对空白值的贡献明显;图1(c)是混合标准(0.2 mg/L)和内标(0.2 mg/L)的总离子流图。由(a)、(b)、(c)三图可见,系统空白中的邻苯二甲酸酯的保留时间与邻苯二甲酸酯标准的一一对应,经过GPC处理后邻苯二甲酸酯空白值增加显著。

实验(b)提示,经过GPC系统的净化程序,空白值增加明显,在做出定性判断的基础上又进一步定量考察了邻苯二甲酸酯空白值增加与流动相在GPC系统中滞留时间之间的关系。操作如下:GPC

表1 测定邻苯二甲酸酯的质谱参数、保留时间和回收率

Table 1 MS parameters, retention times and recoveries for the determination of phthalate acid esters

化合物名称	保留时间 (min)	主要碎片离子 (m/z)	内标	加标水平 20 μg/L (n = 5)	
				平均回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
DMP	7.81	163 <sup>*</sup> , 77, 194	D <sub>4</sub> - DEP	86.5	7.9
DEP	8.67	149 <sup>*</sup> , 177, 105	D <sub>4</sub> - DEP	89.2	9.0
D <sub>4</sub> - DEP	8.65	153 <sup>*</sup> , 181, 109	-		
D <sub>4</sub> -DPRP	9.79	153 <sup>*</sup> , 195, 213	-		
DIBP	10.51	149 <sup>*</sup> , 223, 104	D <sub>4</sub> -DPRP	81.1	5.2
D <sub>4</sub> - DBP	11.32	153 <sup>*</sup> , 227, 108	-		
DBP	11.34	149 <sup>*</sup> , 223, 205	D <sub>4</sub> - DBP	80.3	4.8
DMEP	11.69	59 <sup>*</sup> , 149, 104	D <sub>4</sub> - DBP	94.7	11.5
BMPP	12.371	149 <sup>*</sup> , 167, 85	D <sub>4</sub> - DBP	85.0	4.2
DEEP	12.83	72 <sup>*</sup> , 149, 104	D <sub>4</sub> - DBP	93.4	6.4
DPP	13.28	149 <sup>*</sup> , 237, 219	D <sub>4</sub> - DCHP	92.4	12.1
D <sub>4</sub> - DHXP	15.54	153 <sup>*</sup> , 255, 237	-		
DHXP	15.58	149 <sup>*</sup> , 251, 104	D <sub>4</sub> - DCHP	88.1	5.8
BBP	15.78	149 <sup>*</sup> , 91, 206	D <sub>4</sub> - DCHP	88.6	9.1
DBEP	17.23	149 <sup>*</sup> , 101, 85	D <sub>4</sub> - DCHP	86.5	4.3
D <sub>4</sub> - DCHP	17.97	153 <sup>*</sup> , 171, 253	-		
DCHP	18.01	149 <sup>*</sup> , 167, 249	D <sub>4</sub> - DCHP	86.4	10.8
DEHP	18.08	149 <sup>*</sup> , 167, 279	D <sub>4</sub> - DNOP	91.2	8.9
DPhP	18.38	225 <sup>*</sup> , 77, 153	D <sub>4</sub> - DNOP	92.5	6.5
D <sub>4</sub> - DNOP	20.66	153 <sup>*</sup> , 283, 108	-		
DNOP	20.71	149 <sup>*</sup> , 279, 104	D <sub>4</sub> - DNOP	88.0	7.2
DNP/DINP	23.43	149 <sup>*</sup> , 293, 167	D <sub>4</sub> - DNOP	78.9	10.0



a. 正己烷; b. 混合内标过 GPC 后; c. 混合内标(0.2 mg/L)加混合标准(0.2 mg/L)过 GPC 后

图1 邻苯二甲酸酯的总离子流图

Figure 1 Total ion chromatogram of phthalate acid esters

停机 90 h 后开机,按国标操作程序直接上样,收集馏分,GC-MS 分析检测。GPC 系统经过流动相浸泡 90 h 后,未检测到 DMEP、BMPP、DEEP、DPP、DHXP、BBP、DBEP、DCHP、DPhP、DNOP、DNP、DINP; 检测

到 DMP、DEP、DIBP、DBP、DEHP (见图 2)。其中 DMP 在第 3 收集点 (49.5 min) 达到最大值 (3.26 μg/L), DEP 在第 4 收集点 (66 min) 达到最大值 (4.98 μg/L), DIBP 在第 3 收集点 (49.5 min)

达到最大值(31.4 μg/L), DBP 在第3 收集点(49.5 min)达到最大值(24.4 μg/L), DEHP 在第3 收集点(49.5 min)达到最大值(3.91 μg/L)。实验结果表明,流动相在 GPC 系统中的储留有可能导致邻苯二甲酸酯的迁入,因为整个 GPC 系统回路的总体积在 250 ml 左右,流动相的流速为 5ml/min,前 50 min 收集的馏分都是在系统中储留过的,所以前 50 min 的检出值都是随时间增高的,之后开始下降,这是因为 GPC 系统储留的流动相已基本流出。从第4 收集点(66 min)开始,检出的各邻苯二甲酸酯浓度值开始下降,至 165 min 时已基本趋于恒定,均小于 10 μg/L,这就是常规分析下的空白值,主要来自乙酸乙酯、环己烷和 GPC 仪器系统。

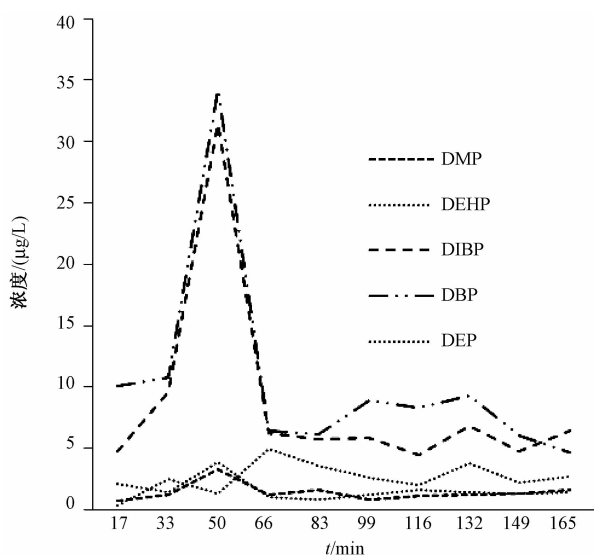


图2 流动相在 GPC 系统中储留时间与邻苯二甲酸酯空白值的关系图

Figure 2 Effect of blank value on the storage time of mobile phase in GPC system

### 3 小结

实验结果表明,GPC 使用的流动相乙酸乙酯-环己烷(1:1)对邻苯二甲酸酯空白值的贡献率最大;流动相在系统中的储留有可能导致 DMP、DEP、DIBP、DBP、DEHP 的迁入,使空白值增高。欧盟 2007/19/EC<sup>[16]</sup>指令规定了塑料食品包装材料中 DBP、DEHP、BBP 的迁移限量分别为 0.3、1.5、30 mg/kg,而本研究通过实验观察到 DBP 的系统空白值可高达 24.4 μg/L,这提示,样品中若检出低含量的 DBP 时应慎下结论。

降低空白值的对策:(1)整个实验过程尽可能使用玻璃器皿,禁用塑料制品。玻璃器皿使用前要用洗液浸泡后纯净水淋洗干净,晾干后使用。(2)所有溶液和试剂均保存在玻璃试剂瓶中,有机溶剂的量取或转移不得使用瓶口分配器,所有溶液的配制及

稀释均用玻璃移液管和玻璃微量注射器;(3)若 GPC 系统长期未使用,开机后最好让储留在系统中的流动相排空后再上样分析。(4)为保证理想的实验结果,每批样品都要做系统空白,若空白值偏高,应单独考察 GPC 使用的环己烷和乙酸乙酯。

尽管本研究是针对 GB/T 21911—2008 中油脂样品 GPC 前处理进行,但对类似的检测方法也有一定的参考价值。

### 参考文献

- [1] MARTINO-ANDRADE A J, CHAHOUD I. Reproductive toxicity of phthalate esters [J]. Mol Nutr Food Res, 2010, 54(1): 148-157.
- [2] HOWDESHELL K L, RIDER C V, WILSON V S, et al. Mechanisms of action of phthalate esters, individually and in combination, to induce abnormal reproductive development in male laboratory rats [J]. Environ Res, 2008, 108(2): 168-176.
- [3] MATSUMOTO M, HIRATA-KOIZUMI M, EMA M. Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: a review of recent studies on reproduction [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2008, 50(1): 37-49.
- [4] CLARK B J, COCHRUM R K. The steroidogenic acute regulatory protein as a target of endocrine disruption in male reproduction [J]. Drug, 2007, 39(2-3): 353-370.
- [5] 孙海燕. 3 种脂溶性溶剂对 PVC 膜中邻苯二甲酸酯类增塑剂溶出量的测定[J]. 科技信息, 2010, 33: 15-16.
- [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] 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.
- [8] 李仁伟, 成桂红, 王涛, 等. 食用油中邻苯二甲酸酯的 GC-MS 测定方法研究 [J]. 中国酿造, 2011, 7: 180-183.
- [9] 林兴桃, 王小逸, 夏定, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定人体尿液中邻苯二甲酸酯及其代谢物 [J]. 分析化学, 2011, 39(6): 877-881.
- [10] 卢跃鹏, 胡筱静, 方慧文, 等. 凝胶渗透色谱-气相色谱/质谱法测定塑料桶装食用油中四种邻苯二甲酸酯 [J]. 粮食与油脂, 2010, 11: 37-39.
- [11] 王美丽, 陈海婷, 张会娜, 等. 高效液相色谱测定肉制品中五种邻苯二甲酸酯 [J]. 分析实验室, 2009, 28(6): 49-52.
- [12] MEMON N, BHANGER M I, KHUHAWER M Y. Determination of preservatives in cosmetics and food samples by micellar liquid chromatography [J]. J Sep Sci, 2005, 28(7): 635-658.
- [13] 王连珠, 王瑞龙, 刘溢娜, 等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱法测定罐头食品中 6 种邻苯二甲酸酯 [J]. 检验检疫科学, 2008, 18(5): 13-17.
- [14] 柴丽月, 辛志宏, 蔡晶, 等. 食品中邻苯二甲酸酯类增塑剂含量的测定 [J]. 食品科学, 2008, 29(7): 362-365.
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21911—2008 食品中邻苯二甲酸酯的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[16] 162007/19/EC amending Directive 2002/72/EC relating to plastic materials and articles intended to come into contact with food and Council Directive 85/572/EEC laying down the list of simulants to be used for testing migration of constituents of plastic

materials and articles intended to come into contact with foodstuffs [S/OL]. [2011-11-16]. <http://www.foodmate.net/law/europa/171847.html>.

## 实验技术与方法

# 气相色谱法测定油豆腐中山梨酸、苯甲酸

陈淑莎,王永根

(浙江省平湖市疾病预防控制中心,浙江 平湖 314200)

**摘要:**目的 建立油豆腐中山梨酸和苯甲酸的毛细管柱气相色谱检测方法。方法 在碱性条件下,样品利用硫酸锌去除基体干扰,水溶液提取,提取液经酸化后乙醚提取,浓缩后乙醇定容,用气相色谱进行分离测定。结果 浓度在 50 ~ 300 μg/ml 时,各组分线性良好(苯甲酸  $r = 0.9996$ ,山梨酸  $r = 0.9994$ )。方法的相对标准偏差为 1.07% ~ 3.14%,回收率为 90.6% ~ 101.8%。结论 该方法简便、快速、准确、稳定,适用于油豆腐中山梨酸和苯甲酸的检测。

**关键词:**毛细管气相色谱;油豆腐;山梨酸;苯甲酸

中图分类号: 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2012)03-0000-00

### Determination of sorbic, benzoic acid in oily bean curd by gas chromatography

Chen Shusha, Wang Yonggen

(Pinghu Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Pinghu 314200, China)

**Abstract: Objective** To develop a method to detect benzoic, sorbic acid in oily bean curd by capillary gas chromatography. **Methods** In alkaline condition, the samples were eliminated matrix interference by ZnSO<sub>4</sub>, extracted aqueous solution, then acidized, extracted by ether, fixed using anhydrous ethanol and finally determined by capillary gas chromatography. **Results** The linear range was 50 - 300 μg/ml (benzoic acid  $r = 0.9996$ , sorbic acid  $r = 0.9994$ ). The relative standard deviation was 1.07% - 3.14%, The recovery was 90.6% - 101.8%. **Conclusion** This method is simple, rapid accurate and reliable to detect the benzoic, sorbic acid of oily bean curd.

**Key words:** Capillary gas chromatography; oily bean curd; sorbic; benzoic acid

苯甲酸和山梨酸是目前最常用的化学合成防腐剂,但如果超标可能会损害健康,因而许多国家的食品卫生标准都规定了最大允许使用量<sup>[1]</sup>。我国国家标准 GB/T 5009.29—2003<sup>[2]</sup>中规定的检验方法有气相色谱法、高效液相色谱法等;张宗辉<sup>[3]</sup>报道了用高效液相色谱法测定高油脂样品中山梨酸、苯甲酸含量,但高效液相色谱仪价格比较昂贵,在基层检测机构普及率不高。气相色谱法按国标方法操作,只适用于基质比较简单的食品;现在也有采用固相萃取来净化高脂肪样品<sup>[4]</sup>,但此法需要

固相萃取柱,检测成本较高。本文利用硫酸锌去除蛋白质等基体干扰,用氢氧化钠改变酸碱度<sup>[5]</sup>,去除脂肪干扰,步骤简单,经过一系列实验证明结果准确、可靠。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

平湖市卫生监督所抽检的各农贸市场在售的散装油豆腐 8 份。

### 1.2 试剂

乙醚; 盐酸(1 + 1); 氢氧化钠溶液(0.50 mol/L); 硫酸锌(0.42 mol/L); 无水乙醇; 苯甲酸、山梨酸标准溶液[GBW(E)100006、GBW(E)100007,浓度均为 1.00 mg/ml]。

收稿日期:2012-01-18

作者简介:陈淑莎 女 主管技师 研究方向为理化检验 E-mail: zjphess@126.com