

实验技术与方法

固相萃取-气相色谱-质谱法测定食用植物油中 17 种塑化剂

石金娥^{1,2}, 刘斌², 邵秋荣³, 齐迹², 谭辉¹, 庞博¹, 陈颖², 包懿², 刘俊会¹(1. 吉林省产品质量监督检验院, 吉林 长春 130103; 2. 吉林省食品检验所, 吉林 长春 130103;
3. 顺德出入境检验检疫局, 广东 顺德 528303)

摘要:目的 建立固相萃取-气相色谱-质谱法检测植物油中 17 种塑化剂(包括邻苯二甲酸二异壬酯)的方法。方法 采用正己烷饱和乙腈萃取, 专用固相萃取柱净化, 丙酮洗脱, 洗脱液经浓缩后, 直接用气相色谱质谱联用仪测定。结果 17 种塑化剂的线性关系较好, 方法检出测限范围在 0.01~0.5 mg/kg, 在高、中、低 3 个水平下进行植物油样品加标试验, 平均回收率为 76.5%~105.2%, 相对标准偏差 $RSD < 8.0\%$ ($n=6$)。结论 本研究所用方法与 GB/T 21911—2008《食品中邻苯二甲酸酯的测定》比较, 不仅适用于邻苯二甲酸二异壬酯(DINP)的检测, 同时净化效果能有效去除油脂及色素的干扰, 明显降低方法的检出限, 且操作简便、溶剂用量小、重现性好。

关键词:植物油; 塑化剂; 邻苯二甲酸二异壬酯; 气相色谱-质谱法; 固相萃取; 净化

中图分类号: R155; O657.6 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2015) 05-0538-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2015.05.012

Determination of 17 kinds of plasticizer in edible vegetable oils
by solid-phase extraction and chromatography mass spectrometry

SHI Jin-e, LIU Bin, SHAO Qiu-rong, QI Ji, TAN Hui, PANG Bo, CHEN Ying, BAO Yi, LIU Jun-hui
(Jilin Province Product Quality Supervision and Inspection, Jilin Changchun 130103, China)

Abstract: **Objective** The method was established for the determination of 17 kinds of plasticizer (PAEs, including DINP) in edible vegetable oils by solid phase extraction and gas chromatography mass spectrometry. **Methods** The PAEs in the oil samples were extracted by acetonitrile saturated with n-hexane, further purified with special solid phase extraction column, and eluted with acetone. The eluting solvent was then collected, concentrated, and directly detected with gas-chromatography spectrometry (GC-MS). **Results** The linearity of PAEs was good. The detection limits of 17 PAEs were 0.01-0.5 mg/kg. The recoveries were 76.5%-105.2% in low, medium and high level spiked samples. The relative standard deviations were less than 8.0% ($n=6$). **Conclusion** Compared with GB/T 21911-2008, this method was not only suitable for the detection of DINP, but also could effectively remove the interference of grease and pigment and significantly lower the detection limits. The method was simple, accurate, solvent saving and had good reproducibility.

Key words: Edible vegetable oils; plasticizer; diisononyl phthalate; gas-chromatography mass spectrometry; solid phase extraction; purification

自台湾引发塑化剂风波后, 中华人民共和国卫生部于 2011 年 6 月 1 日发布紧急公告, 将邻苯二甲酸酯类物质列入食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单。公告也明确规定了食品、食品添加剂中邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)、邻苯二甲酸二异壬酯(DINP)和邻苯二甲酸二正丁酯(DBP)的最大残留量分别为 1.5、9.0 和 0.3 mg/kg^[1]。GB/T 21911—2008《食品中邻苯二

甲酸酯的测定》^[2] 由于不能完全除去油脂、色素等干扰, 且检出限为 1.5 mg/kg; 本文在 GB/T 21911—2008 方法基础上, 采用固相萃取技术(SPE)代替凝胶色谱技术(GPC), 有效克服油脂、色素的干扰, 净化效果好, 降低了方法的检出限; 同时, 借助固相萃取装置, 满足多样品同时处理, 使得该法简便、高效、重现性好, 且溶剂用量少。

目前, 关于塑化剂的检测方法研究已不鲜见, 但大多倾向于白酒、饮料或基质不复杂的食品类别^[3-10], 而基质复杂、干扰严重的植物油样品中塑化剂的方法研究则相对较少。张征、王淑慧等^[11-12] 在 GB/T 21911—2008 基础上, 采用固相萃取柱针对标准中规定的 16 种塑化剂进行方法的改进研究, 但公

收稿日期: 2015-05-27

作者简介: 石金娥 女 高级工程师 研究方向为食品及相关产品
检测 E-mail: shije351@aliyun.com

通讯作者: 刘俊会 男 研究员 研究方向为食品安全
E-mail: yldx1988@163.com

告中有限量要求的 DINP 却被忽视在外,导致对 DINP 的监测无据可依。本方法除对 GB/T 21911—2008 方法进行改进外,在原有 16 种塑化剂基础上增加了 DINP 这一判定参数,同时针对 DINP 的特殊性,选用了一款油脂专用柱(PAE 30006-G 玻璃固相萃取小柱),以满足油脂中 17 种塑化剂同时测定的需求;个别油脂中塑化剂虽采用固相萃取小柱净化样品,但由于柱容量的限制,取样量仅为 0.1~0.2 g^[11,13-15],但样品量太少易导致样品重复性差,而本方法使用的 PAE 30006-G 玻璃固相萃取柱柱容量大,可使检测结果更具代表性和准确性。本方法旨在开发油脂中塑化剂检测新资源的同时,满足 DINP 这一有限量要求的塑化剂新参数的检测需求。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

HP-5MS 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm;美国 Agilent),GC 6890-MS 5973N 型气相色谱-质谱联用仪、10 孔固相萃取装置均购自美国 Agilent, N-EVAP 型氮吹仪(带水浴加热,美国 Organomation),电子分析天平(精度为 0.1 mg),低速台式离心机,圆周振荡器,Cleanert PAE 玻璃固相萃取柱(3 g/6 ml,博纳艾杰尔公司),玻璃器皿(所用玻璃器皿洗净后,用重蒸馏水淋洗 3 次,丙酮浸泡 1 h,在 200 ℃下烘烤 2 h,冷却至室温备用)。

17 种邻苯二甲酸酯类标准品溶液(PAEs,德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH):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(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(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)标准品(纯度>99.5%),正己烷、甲醇、丙酮、无水乙醇、乙腈均为色谱纯。

1.2 方 法

1.2.1 标准溶液的配制

DINP 以正己烷溶液为溶剂配制成浓度为 100 μg/ml,其他 16 种 PAE 以正己烷溶液为溶剂配制成浓度为 10 μg/ml 的标准储备液;准确移取储备液,配制成标准系列溶液,使 DINP 的标准曲线工作

范围为 2.0~100 μg/ml,其他 PAEs 标准曲线工作范围为 0.2~10.0 μg/ml。

1.2.2 样品处理

准确称取 0.5 g 植物油,置于 10 ml 具塞玻璃离心管中,加入 5 ml 正己烷饱和乙腈,涡旋 2 min,4 000 r/min 离心 2 min;将上清液转移至另一干净 10 ml 具塞玻璃离心管中,重复提取 1 次;将上清液合并,40 ℃水浴下氮气吹近干,加入 1 ml 丙酮,混匀,作为待净化液。

1.2.3 样品净化

分别用 5 ml 甲醇、丙酮活化 PAE 30006-G 固相萃取柱;将待净化液全部上样,待净化液全部流出时,用 10 ml 丙酮洗脱,10 ml 具塞玻璃离心管接收全部洗脱液,将洗脱液于 40 ℃水浴下氮气吹干,加入 1 ml 正己烷,涡旋混合 1 min,4 000 r/min 离心 2 min,取上清液进气相色谱-质谱法(GC-MS)测定。空白试验按上述方法进行。固相萃取操作在固相萃取装置上进行,且整个过程在重力作用下完成。

1.2.4 仪器条件

气相色谱条件:色谱柱:HP-5MS 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm)或相当型号色谱柱;进样口温度 250 ℃;升温程序为初始柱温 60 ℃,保持 1 min,以 20 ℃/min 升温至 220 ℃,保持 1 min,再以 5 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 10 min;载气为氦气(纯度≥99.999%);载气流速 1 ml/min;进样方式为不分流进样;进样量 1 μl。

质谱条件:GC-MS 接口温度 280 ℃;离子源温度 230 ℃;四级杆温度 150 ℃;电离方式为电子轰击源(EI 源);电离能量 70 eV;监测方式选择离子扫描模式(SIM);溶剂延迟 5 min,监测离子参见表 1。

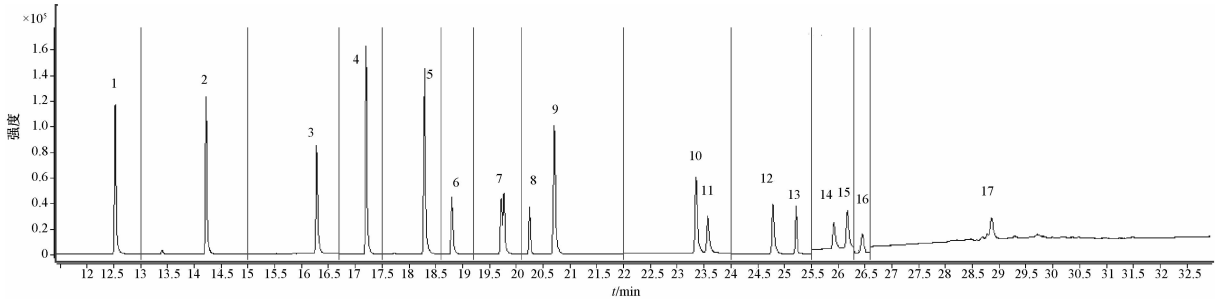
Table 1 Mass spectrometry analysis parameters				
编号	化合物名称	保留时间 /min	定量离子 /(m/z)	辅助定量离子 /(m/z)
1	DMP	12.53	163	77,194
2	DEP	14.22	149	177,121
3	DIBP	16.28	149	167,223
4	DBP	17.20	149	205,223
5	DMEP	18.29	59	149,193
6	BMPP	18.80	149	167,251
7	DEEP	19.76	149	72,221
8	DPP	20.25	149	219,237
9	DHXP	20.71	149	104,251
10	BBP	23.36	149	206,91
11	DBEP	23.57	149	167,251
12	DCHP	24.79	149	167,83
13	DEHP	25.20	149	167,279
14	DPhP	25.93	149	197,225
15	DNOP	26.18	149	167,279
16	DNP	26.45	149	167,279
17	DINP	28.86	149	127,293

2 结果与分析

2.1 固相萃取柱的选择

GB/T 21911—2008 方法中,采用 GPC 对油脂样品进行净化处理,但 GPC 法处理样品时间长,溶剂用量大,检出限较高(检出限为 1.5 mg/kg);同时

GB/T 21911—2008 方法中仅针对除 DINP 外的 16 种塑化剂,DINP 的监测无据可依。因此,本方法选用 PAE 30006-G 玻璃固相萃取柱(油脂中塑化剂测定专用柱)代替了 GPC,既降低了方法的检出限,同时 DINP 又有较好的回收率。17 种 PAEs 标准物质的选择离子色谱图见图 1。



注:17 种标准物质的编号及名称同表 1

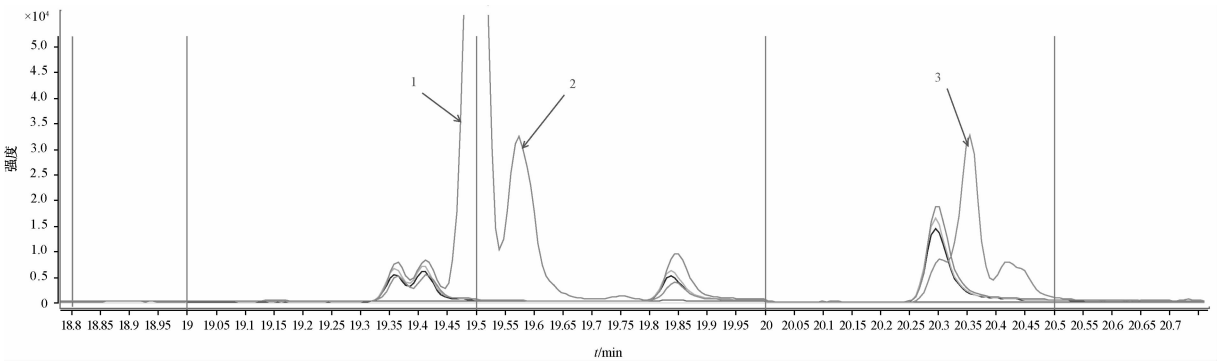
图 1 17 种 PAEs 标准物质的提取离子色谱图

Figure 1 EIC of 17 PAEs

2.2 提取溶剂和洗脱溶剂的选择

本研究比较了甲醇、无水乙醇、丙酮、正己烷、乙腈、正己烷饱和乙腈等 6 种不同提取溶剂对样品中 PAEs 的提取效果。结果发现,丙酮、正己烷与油脂互溶,无法实现目标物与基质的分离;甲醇、无水

乙醇提取会引入干扰物质,图 2 中 1、2 色谱峰为甲醇提取时引入的干扰物质,3 色谱峰为无水乙醇提取时引入的干扰物质,乙腈、正己烷饱和乙腈作为提取溶剂均未引入干扰,但正己烷饱和乙腈对目标物的提取效率略高于乙腈。



注:图中 1、2、3 号色谱峰均为杂质峰

图 2 不同溶剂提取的提取离子色谱图

Figure 2 EIC of different solvents extraction

对于植物油样品,溶剂提取后直接测定,基质干扰严重,检出限不能满足要求。采用固相萃取柱净化时需要考虑洗脱溶剂的洗脱效果。试验选择正己烷、丙酮、乙腈等 3 种溶剂作为洗脱溶剂,并以公告中有限量要求的 DBP、DEHP 和 DINP 为例,考察 3 种溶剂的洗脱效果,结果显示,丙酮的洗脱效果最好,乙腈次之,正己烷最小,见图 3、4。

2.3 17 种塑化剂的线性方程及最低检出限

标准储备液用正己烷稀释,使 DINP 的标准曲线工作范围为 2.0 ~ 100 μg/ml,其他 PAEs 标准曲线工作范围为 0.2 ~ 10.0 μg/ml,以塑化剂浓度(mg/L)为横坐标,以相应的峰面积为纵坐标作标准曲线,17 种塑化剂的线性回归方程见表 2。

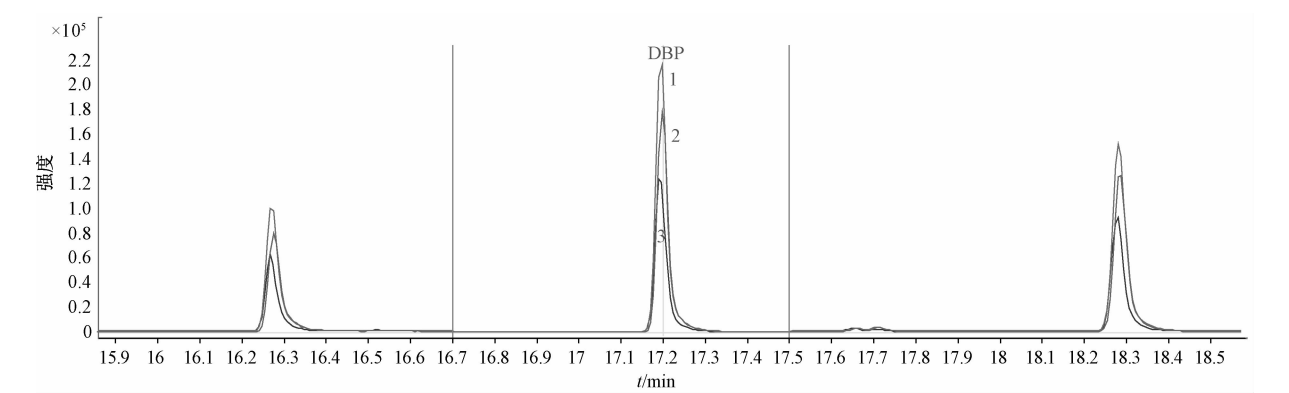
本方法的最低检出限(LOD)为取某一低浓度的标准溶液加入空白植物油样品,重复测定 6 次,以 3 倍信噪比时 PAEs 浓度计算出 17 种 PAEs 方法最低 LOD(mg/kg),计算结果见表 2。

2.4 精密度与回收率

取 0.5 g 空白植物油样,分别进行不同浓度的添加,按 1.2.2 及 1.2.3 方法处理后进行测定。结果显示,方法的平均回收率在 76.5% ~ 105.2% 范围内,相对标准偏差在 3.0 ~ 7.7% (n = 6) 范围内,该方法的重现性较好,准确度符合要求。见表 3。

2.5 植物油样品的测定

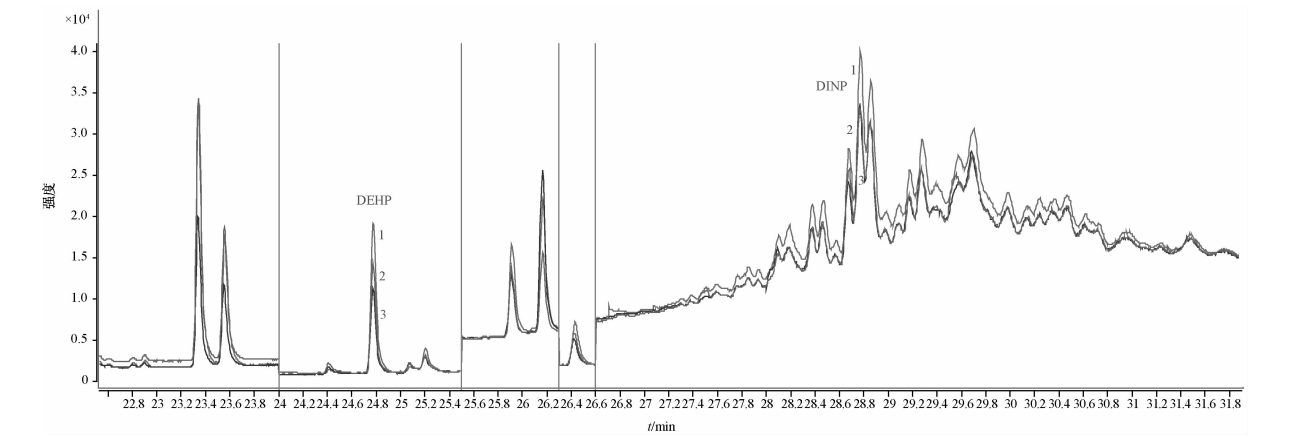
采集的 50 份植物油样品中,DMP、DIBP、DBP、DEHP 均有不同程度的检出,由监测结果发现,



注:1 号为丙酮洗脱;2 号为乙腈洗脱;3 号为正己烷洗脱

图 3 DBP 在 3 种洗脱溶剂作用下的提取离子色谱图

Figure 3 EIC of DBP under different eluting solvent



注:1 号为丙酮洗脱;2 号为乙腈洗脱;3 号为正己烷洗脱

图 4 DEHP、DINP 在 3 种洗脱溶剂作用下的提取离子色谱图

Figure 4 EIC of DEHP and DINP under different eluting solvent

表 2 17 种塑化剂的线性方程、相关系数及检出限

Table 2 Linear equations, correlation coefficients, and detection limits of 17 PAEs			
化合物名称	线性方程	相关系数	LOD /(mg/kg)
DMP	$y = 9.37 \times 10^5 x + 4.70 \times 10^5$	0.998	0.02
DEP	$y = 9.23 \times 10^5 x + 1.02 \times 10^5$	0.998	0.02
DIBP	$y = 1.47 \times 10^6 x + 3.09 \times 10^5$	0.997	0.03
DBP	$y = 1.29 \times 10^6 x + 3.07 \times 10^4$	1.000	0.01
DMEP	$y = 4.67 \times 10^5 x - 1.07 \times 10^5$	0.999	0.01
BMPP	$y = 4.20 \times 10^5 x - 9.10 \times 10^4$	0.997	0.15
DEEP	$y = 2.93 \times 10^5 x - 6.66 \times 10^4$	0.999	0.33
DPP	$y = 1.81 \times 10^6 x - 2.97 \times 10^5$	0.998	0.24
DHXP	$y = 7.13 \times 10^5 x - 1.66 \times 10^5$	0.999	0.01
BBP	$y = 1.70 \times 10^6 x - 3.79 \times 10^5$	0.998	0.03
DBEP	$y = 1.36 \times 10^6 x - 3.76 \times 10^5$	0.998	0.32
DCHP	$y = 1.16 \times 10^6 x - 3.34 \times 10^5$	0.998	0.13
DEHP	$y = 2.98 \times 10^5 x + 1.45 \times 10^3$	1.000	0.15
DPhP	$y = 3.02 \times 10^5 x - 1.05 \times 10^5$	0.997	0.02
DNOP	$y = 1.47 \times 10^5 x - 2.45 \times 10^5$	0.991	0.04
DNP	$y = 4.47 \times 10^5 x - 8.30 \times 10^4$	0.999	0.02
DINP	$y = 7.50 \times 10^4 x - 1.68 \times 10^5$	0.992	0.50

表 3 食用油中 17 种塑化剂的平均回收率及精密度($n=6, \%$)

Table 3 Quantitative recoveries and precisions of 17 PAEs in dible vegetable oil						
化合物名称	加标浓度 0.1 mg/L		加标浓度 0.5 mg/L		加标浓度 1.5 mg/L	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
DMP	92.21	6.37	92.51	4.61	94.61	2.95
DEP	99.54	6.93	98.74	5.98	102.54	5.47
DIBP	89.21	6.87	91.25	6.25	91.52	5.41
DBP	92.54	7.19	92.98	6.39	95.34	6.51
DMEP	103.24	6.19	105.21	5.59	103.51	5.12
BMPP	80.24	6.31	80.57	5.97	83.75	5.69
DEEP	93.65	6.14	94.36	5.68	96.73	5.24
DPP	89.15	7.67	89.19	5.78	89.97	5.38
DHXP	80.35	5.46	80.36	5.02	80.45	4.59
BBP	85.26	5.12	86.57	5.30	88.87	5.01
DBEP	76.54	4.39	77.14	4.25	77.94	4.35
DCHP	79.38	6.89	80.69	5.69	80.46	5.62
DEHP	96.26	5.78	96.25	5.48	96.97	5.14
DPhP	82.04	5.34	85.12	5.48	86.32	5.36
DNOP	84.78	5.91	85.39	5.36	85.21	5.81
DNP	90.51	3.71	90.28	3.58	90.81	3.51
DINP	79.58	6.03	79.68	5.71	80.25	5.62

DMP 检出最高值为 2.65 mg/kg, 检出率为 6% (3/50);DIBP 检出最高值为 0.65 mg/kg, 检出率为

30% (15/50);DBP 检出最高值为51.75 mg/kg,检出率为 22% (11/50);DEHP 检出最高值为7.37 mg/kg,检出率为 72% (36/50),DINP 均未检出。

如果仅以 DBP、DEHP、DINP 3 种邻苯二甲酸酯类化合物作为判定标准,监测样品中共有 20 个产品超出国家标准限值,占食用植物油样品的 40%。说明邻苯二甲酸酯类化合物在食用植物油中迁移量很大,对食用植物油污染较严重。

3 小结

利用 PAE 30006-G 玻璃固相萃取柱净化油脂和 GC-MS 选择离子监测模式,建立植物油中 17 种塑化剂(包括 DINP)的检测方法。试验结果表明,该方法净化效果好,灵敏度高;处理过程简捷、快速,可多样品同时净化;弥补了 GPC 净化导致检出限高的同时,大大节省了溶剂使用量,也为 DINP 的监测提供参考。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 卫生部办公厅关于通报食品及食品添加剂中邻苯二甲酸酯类物质最大残留量的函(卫办监督函[2011]551 号)[Z]. 2011.

[2] 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.

[3] 尤宏梅. 气相色谱-质谱联用法分析酒中塑化剂和香气成分

[D]. 辽宁:哈尔滨理工大学,2014.

[4] 邵栋梁. GC-MS 法测定白酒中邻苯二甲酸酯残留量[J]. 化学分析计量,2010,19(6):33-35.

[5] 熊含鸿,曾玩嫻. 白酒中 17 种邻苯二甲酸酯测定方法初探[J]. 酿酒,2013,40(3):93-96.

[6] 李春扬,张晓磊,饶静,等. 白酒中邻苯二甲酸酯检测方法的选择和优化[J]. 酿酒科技,2013(2):102-106.

[7] 应全红,王霓,白德奎,等. 白酒中塑化剂 GC-MS 检测方法的研究[J]. 中国酿造,2013,32(11):136-138.

[8] 李琳,孙秋菊,辛士刚,等. 气相色谱/质谱法测定饮料中 10 种邻苯二甲酸酯类塑化剂[J]. 沈阳师范大学学报:自然科学版,2013,32(11):136-138.

[9] 褚珺,梁德沛,孙远明,等. 食品中 16 种邻苯二甲酸酯类塑化剂的 GC-MS 检测方法研究[J]. 中国粮油学报,2014,29(2):94-99.

[10] 刘思洁,方赤光,李青,等. 吉林省食品中邻苯二甲酸酯类化合物残留量监测与结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2012,22(3):598-600.

[11] 张征,王峰,王宛,等. SPE-GC/MS 法测定植物油中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物[J]. 食品科技,2012,37(4):296-299.

[12] 王淑惠,刘印平,王丽. 气相色谱串联质谱快速检测植物油中邻苯二甲酸酯[J]. 应用化工,2013,42(2):376-379.

[13] 王力清,黄翠莉,陈洪涛,等. 食用油中邻苯二甲酸酯类高通量检测方法的研究[J]. 中国油脂,2012,37(6):43-46.

[14] 杜鹏程,姜童祥,巩飏. GC-MS/MS 法测定食用植物油中 17 种邻苯二甲酸酯类化合物[J]. 中国卫生检验杂志,2014,24(5):620-623.

[15] 陈志民,徐晓枫,丁永萍,等. 食用油中 16 种邻苯二甲酸酯的测定[J]. 中国卫生检验杂志,2013,23(2):304-306.

实验技术与方法

电喷雾-离子迁移谱快速筛查淀粉中的顺丁烯二酸

王洁¹, 骆和东², 李平³, 张璨雯¹, 贾玉珠²

(1. 集美大学生物与工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 厦门市疾病预防控制中心, 福建 厦门 361021; 3. 厦门鉴科检测技术有限公司, 福建 厦门 361006)

摘要:目的 建立电喷雾-离子迁移谱(ESI-IMS)快速筛查淀粉中顺丁烯二酸的检测方法。方法 样品经 80% 甲醇水溶液超声提取,稀释定容后经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,在大气压条件下,以 ESI 作为电离源,空气作为迁移气体,在负离子模式进行检测,基质外标法定量。结果 顺丁烯二酸在 5~50 μg/ml 范围内呈现良好的线性关系,相关系数(*r*)为 0.998 3,检出限为 2 μg/ml,定量限为 5 μg/ml。在 5.0、10.0、50.0 mg/L 3 个浓度加标水平下,顺丁烯二酸的平均回收率为 87.5%~96.0%,相对标准偏差(*RSD*)为 3.58%~7.07%。结论 本文建立的方法样品前处理方法简单、操作快速简便、结果稳定可靠,适用于淀粉样品中顺丁烯二酸的快速筛查。

关键词:离子迁移谱; 顺丁烯二酸; 淀粉; 筛查; 违法添加; 食品安全

中图分类号:R155;O658 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2015) 05-0542-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.05.013

收稿日期:2015-02-27

基金项目:福建省自然科学基金面上项目(2014D005)

作者简介:王洁 女 硕士生 研究方向为食品安全 E-mail:524024784@qq.com

通讯作者:骆和东 男 主任技师 研究方向为食品分析 E-mail:luohedong@126.com