

综述

食品中烷基酚检测技术进展

邓 瑛 涂晓明

(北京市疾病预防控制中心,北京 100013)

摘 要: 论述环境内分泌干扰物质烷基酚在不同食品基质(奶、液体样品、动物组织)中的检测前处理方法和分析方法的研究进展。

关键词: 酚类;食品;化学;分析

Current Progress in Methods for Analysis of Alkylphenols in Foods

DENG Ying, TU Xiao-ming

(Beijing Municipal Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

Abstract: Methods for analysis of alkylphenols, a class of endocrine disruptors, were reviewed. Different sample preparation method for different sample materials (milk, beverage, animal tissues) and detection technologies were introduced.

Key word: Phenols; Food; Chemistry, Analytical

烷基酚(alkylphenols, APs)包括壬基酚(nonylphenol, NP)、辛基酚(octylphenol, OP)、丁基酚等碳链长度为C4 - C9的酚类物质(主要是壬基酚和辛基酚),被广泛地用作塑料增塑剂、工业用洗涤剂、农药乳化剂、纺织行业的整理剂。我国目前年壬基酚生产能力2.5万吨,产量为2.2万吨。近几年我国壬基酚进口量维持在年1万吨左右。全世界每年辛基酚产量为30万吨左右,我国辛基酚的生产能力约1.4万。

大量体内、外实验证实,APs作为具有内分泌干扰活性的环境信号,可对哺乳动物与水生生物的生殖与发育造成不同程度的影响,从而引起了毒理学家、生态学家、环境流行病学家等的广泛关注。一些欧美国家分别提出了一系列控制污染的对策。目前相关研究主要集中在其环境行为及其可能的相关生态环境风险方面,有关食品中烷基酚的分析方法还不是很多。大量的研究表明,这些化合物广泛地存在于各种食品中,目前的数据还很难评价对人类可能的风险,但对人类长期的潜在风险,特别是与其他雌激素类物质的协同效应是不容忽视的。因此对食品中烷基酚的分析方法的研究应予以重视。

1 样品前处理

1.1 奶样品处理 奶样品常用的处理方法包括蒸汽蒸馏、液液萃取、固相萃取等方法。通常水蒸汽蒸馏常用于提取浓缩憎水的挥发性有机物, K Guenther

等利用蒸气蒸馏处理方法测定了德国牛奶中的壬基酚的污染状况^[1]。将奶样置于烧瓶中,加入提取溶剂和内标,蒸馏提取5 h,冷凝液用20 ml环己烷/异辛烷(1:1)萃取,有机相分离并用无水硫酸钠干燥,浓缩后用正相液相色谱净化,回收率为90%~100%。

Loyo-Rosales J E利用二氯甲烷作为萃取溶剂测定了壬基酚从容器到牛奶迁移率^[2],500 ml奶用50 ml二氯甲烷萃取3次,萃取物通过无水硫酸钠去除水,旋转蒸发,回收率为75%~81%。N Casajuana建立了各种牛奶、奶粉中壬基酚固相萃取浓缩净化方法^[3]。奶粉用水溶解,加入4-NP为内标,超声加入水稀释,试样用C₁₈固相萃取柱处理。固相萃取柱用二氯甲烷+正己烷(4+1体积)淋洗,然后用乙酸乙酯洗脱。

基质固相分散萃取技术^[4]也被应用于牛奶样品中壬基酚监测。在鸡蛋和牛奶试样中加入4-n-NP内标溶液和C-18填料粉末共同搅拌,充分均匀后用氮气吹干至可以自由流动的粉末。将吹干后的粉末填入空固相萃取柱中,用甲醇洗脱,进一步用NH₂柱净化。

1.2 液体样品处理 液体样品前处理主要包括矿泉水、饮料、纯净水的样品的处理方法,尤其以环境水样的报道居多。其方法包括蒸汽蒸馏、液液萃取、固相萃取(SPE)、固相微萃取技术等。

Gger等利用水蒸气蒸馏来浓缩水中的NP^[5],获得了较高的回收率。Wahlberg等运用非连续萃取方法测定了污水处理厂的出水水样^[6],向水溶液中

加入 NaCl,消除乳化现象,获得了很好的回收率(98%)。Lee 等将连续萃取与现场衍生化有机地结合在一起,提取河水中的 NP,其方法是向水样中加入 K_2CO_3 和乙酸酐,用石油醚(bp:30~60)覆盖在水层上。搅拌 30 min,形成的乙酸酯被定量地转移入有机相,可得到 93%~97%的回收率^[7]。

相对于液液萃取,固相萃取具有低溶剂消耗、自动化操作程度高、适用范围广等优点。通常的固相萃取柱填料有:阴离子树脂(XAD-2, XAD-4, XAD-8)、十八烷基硅胶(ODS)、离子交换树脂、粒状活性炭、石墨化碳黑等。

XAD-2 树脂常用于从海水和废水中提取分析物质,水样用 NaCl 饱和后通过含 XAD-2 树脂的萃取柱,用丙酮+水(9+1)或先后用乙醚、甲醇淋洗。为了防止线形烷基苯磺酸的干扰,水样先加入阴离子交换树脂一起振荡,滤液与 1 g XAD-2 树脂振荡。APs 被吸附于 XAD-2 树脂上,再用甲醇淋洗,可得到 90%~100%的回收率^[8]。XAD-4 树脂常用来提取河水中的 APs,用 4 种不同体系的溶剂解析得到 90%~100%的回收率^[9]。XAD-8 树脂具有更大的极性,具有聚甲基丙烯酸的结构,常用于分析地下水^[10]。

ODS 柱常用于浓缩 NP。在提取前先用二氯甲烷、甲醇和酸性水对萃取柱进行预处理。将水样 pH 调整至 2 左右,将水样通过萃取柱,再用溶剂淋洗,回收率高于 80%。

石墨化碳黑(GCB, 120~400 目)是一种多孔的固体粉末物质,表面有大量的正电活性中心^[11]。将一定量的水样通过含 1 g GCB 的固相萃取柱,再用二氯甲烷+甲醇(80+20)洗脱,NP 的回收率达到(89±7)%。

近年来,固相微萃取(SPME)逐渐引起了人们的兴趣。这种萃取方法不需要溶剂而直接从水样中提取非极性的半挥发性物质。Pawliszyn 等将 SPME 与 HPLC 有机地结合起来,开发一种在线 SPME-HPLC 分析方法^[12]。用一种特殊的解析池代替传统的进样圈。SPME 装置将吸附的分析物质转移至进样口,在进样口 AP 被解析进入 HPLC 与流动相混合。

1.3 动物组织样品中壬基酚前处理 对于动物组织样品,目前常用的分析方法是加速溶剂萃取、索氏提取、蒸汽蒸馏、液液萃取、基质固相分散萃取等。

Shao^[13]等将压力加速溶剂萃取技术应用于动物组织中壬基酚、辛基酚和双酚 A(BPA)的含量测定,并且对各种萃取参数和净化条件进行了详尽的研究。I Schmitz-Afonso 等^[14]利用加速溶剂萃取建立了鱼鹰蛋和鱼肉中烷基酚和烷基酚聚氧乙烯醚的提取净化方法,解冻的鱼肉组织试样与无水硫酸钠混合

过夜干燥,试样用二氯甲烷萃取。提取物旋转蒸发并用正己烷溶解,最后用氨基固相萃取柱净化。

S M Rhind 等^[15]应用二氯甲烷热萃取技术和固相萃取净化技术建立了羊肝脏、肾脏和肌肉组织中烷基酚的分析方法。冷冻干燥的试样,加入二氯甲烷,提取 2 h,蒸发溶剂,通过氨基固相萃取柱或 Envirosep ABC (350 mm ×21.2 mm)凝胶渗透色谱净化。

K Kannan 等^[16]利用蒸汽蒸馏技术建立了鱼肉组织中壬基酚的提取方法。试样加入氯化钠和浓硫酸,运用 Nielsen Kryger 蒸汽蒸馏装置进行蒸馏,提取物用氮气浓缩,利用正相的液相色谱进行净化。净化采用 Phenomenex Luna 硅胶柱(250 mm ×4.6 mm, 5 μm; Torrance, CA),12%甲醇+二氯甲烷(1+4,体积分数)和 88%正己烷以 0.65 ml/min 流速等度淋洗,荧光检测器检测,收集 7~16 min 部分。

C Uguz 等建立了鱼肝脏中壬基酚的基质固相分散萃取方法^[17],一定量的试样与 C-18 固相萃取填料放入研钵共同研磨成可以自由流动的粉末,加入甲醇混合,混合物 12 000 g 离心 15 min,上清液用于液相色谱测定。Zhao 等也将这一技术用于动物组织中壬基酚的分析^[18]。索氏提取常用于提取鱼肉组织中的壬基酚^[19],称取一定量的均化过的试样(湿重),加入无水硫酸钠混和均匀,用二氯甲烷+甲醇(70+30)索氏提取 24 h。提取液旋转蒸发近干,加入约 4 ml 甲醇溶解。再加入 100 ml 超纯水,用盐酸调 pH=2~3。溶液用石墨化碳黑(GCB)的固相萃取柱浓缩净化。

2 烷基酚的检测

2.1 气相色谱以及气相色谱-质谱(GC-MS)技术相对于液相色谱、气相色谱具有更好的色谱分辨率,同时由于烷基酚具有较好的挥发性,因此目前的分析技术更多的是采用气相色谱及其相关的检测技术。常用的检测器包括 FID、ECD、EI、NCI、PCI 等,这里主要介绍气相色谱-质谱检测技术,包括 GC-EI-MS、GC-NCI-MS 和 GC-PCI-MS。为了提高方法的灵敏度,常利用在线或离线的衍生技术提高烷基酚的挥发性,从而提高方法的灵敏度。常用的衍生方法包括硅烷化反应(BSTFA 或 MSTFA 衍生)、苯基化反应(五氟苯基溴或五氟苯基氯)和乙酰化。

邵兵利用气相色谱-EI-质谱非衍生化测定了壬基酚^[20],在保留时间 11.1~11.9 min 范围内出现了 11 个峰,这些峰相对应于壬基酚的 11 种同分异构体。

K Sakurai 等^[21]利用 BSTFA 作为硅烷化衍生试剂,详细地比较了 EI 和 PCI 的不同裂解方式。对于 EI 电离模式,主要得到烷基酚衍生物的离子碎片信

息,而反应分子量信息的离子丰度比较低,不利于化合物的定性。PCI 电离模式能够得到分子量的信息, $M+1$ 往往是基峰,同时还有 $M+$ 碰撞气离子的峰,有利于化合物的定性。

2.2 液相色谱及液相色谱-质谱技术 虽然气相色谱-质谱具有优良的分辨率,可以分离测定不同的壬基酚的同分异构体,但由于很难找到纯的定量标准品,因此,存在定量难的问题,常常需要将每个峰的面积进行加和来定量。而壬基酚的各种同分异构体在液相色谱中常常呈现一个单一的峰,有利于进行定量的检测。烷基酚的液相色谱分析常用的检测技术包括紫外、荧光和质谱技术,紫外的测定波长常为 220 nm 和 280 nm,荧光检测器的激发波长 λ_{ex} : 228 nm,发射波长 λ_{em} : 305 nm。

邵兵等^[22]利用液相色谱-电喷雾-串联质谱(LC-ESI-MS/MS)的多离子监测(MRM)技术建立了食品中壬基酚、辛基酚和双酚 A 的分析技术,作者详细地讨论了各种质谱参数、流动相条件等对质谱灵敏度的影响。结果表明流动相为含有一定氨水的甲醇+水溶液时,BPA、NP、OP 和内标物质的灵敏度最高。

参考文献

- [1] QUENTHER K, HEINKE V, THIELE B, et al. Endocrine disrupting nonylphenols are ubiquitous in food[J]. *Environ Sci Technol*, 2002, 36: 1676-1680.
- [2] LOYO-ROSALES J. Emigration of nonylphenol from plastic containers to water and a milk surrogate[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 2016-2020.
- [3] CASAJUANA N, LACORTE S. New methodology for the determination of phthalate esters, bisphenol A, bisphenol A diglycidyl ether and nonylphenol in commercial whole milk samples[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52: 3702-3707.
- [4] 邵兵, 韩灏, 高迎新, 等. 基质固相分散萃取-液相色谱-质谱/质谱测定牛奶和鸡蛋中的烷基酚和双酚 A[J]. *环境化学*, 2005, 24: 483-484.
- [5] GIGER W, STEPHANOU E, SCHAFFNER C. Persistent organic chemicals in sewage effluents: 1. Identification of nonylphenoethoxylates by glass capillary gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Chemosphere*, 1981, 10: 1253-1263.
- [6] WAHLBERG C, RENBERG L, WIDEQVIST U. Determination of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates as their pentafluorobenzoates in water, sewage sludge and biota[J]. *Chemosphere*, 1990, 20: 179-195.
- [7] LEE H B, PEART T E. Determination of 4-nonylphenol in effluent and sludge from sewage treatment plants[J]. *Anal Chem*, 1995, 67: 1976-1980.
- [8] SAITO T, HAGIWARA K. Analysis of traces of surfactants in water with anion-exchange resin and polymeric adsorbent[J]. *Fresenius' Z Anal Chem*, 1982, 312: 533-535.
- [9] JONES P, NICKLESS G. Evaluation of amberlite XAD-4 resin as an extractant for polyethylated material[J]. *J Chromatogr*, 1978, 156: 87-97.
- [10] THURMAN E M, WILLOUGHBY T, BARBER L B, et al. Alkylbenzenesulfonate surfactants were determined in groundwater[J]. *Anal Chem*, 1987, 59: 1798-1802.
- [11] MARCOMINI A, GIGER W. Simultaneous determination of linear alkylbenzene sulfonates, alkylphenol polyethoxylates, and nonylphenol by high-performance liquid chromatography[J]. *Anal Chem*, 1987, 59: 1709-1715.
- [12] BODY-BOLAND A A, PAWLISZYN J. Solid-phase microextraction with High-performance liquid chromatography for the determination of alkylphenol ethoxylate surfactants in water[J]. *Anal Chem*, 1996, 68: 1521-1529.
- [13] SHAO B, HAN H, LI D M, et al. Analysis of alkylphenol and bisphenol a in meat by accelerated solvent extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. *Food Chem*, 2007 (in press).
- [14] SCHMITZ-AFONSO I, LOYO-ROSALES J E, DE LA PAZ AVILES M, et al. Determination of alkylphenol and alkylphenoethoxylates in biota by liquid chromatography with detection by tandem mass spectrometry and fluorescence[J]. *J Chromatogr A*, 2003, 1010: 25-35.
- [15] RHIND S M, KYLE C E, TELFER G, et al. Alkyl phenols and diethylhexyl phthalate in tissues of sheep grazing pastures fertilised with sewage sludge or inorganic fertiliser[J]. *Environ Health Persp*, 2005, 113: 447-453.
- [16] KANNAN K, KEITH T L, NAYLOR C G, et al. Nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in fish, sediment, and water from the Kalamazoo River, Michigan[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2003, 44: 77-82.
- [17] UGUZ C, ISCAN M, ERGUVEN A, et al. The bioaccumulation of nonylphenol and its adverse effect on the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Environ Res*, 2003, 92: 262-270.
- [18] ZHAO M, VAN DER WIELEN F, DE VOOGT P. Optimization of a matrix solid-phase dispersion method with sequential clean-up for the determination of alkylphenol ethoxylates in biological tissues[J]. *J Chromatogr A*, 1999, 837: 129-138.
- [19] SHAO B, HU J Y, YANG M, et al. Nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in river water, drinking water, and fish tissue in the area of Chongqing, China[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2005, 48: 467-473.
- [20] 邵兵, 胡建英, 杨敏. 重庆流域嘉陵江和长江水环境中壬基酚污染状况调查[J]. *环境科学学报*, 2002, 22: 12-16.
- [21] SAKURAI K, SUGAYA N, NAKAGAWA T. Simultaneous analysis of endocrine disruptors, 4-alkylphenol and bisphenol A, contained in synthetic resin products[J]. *J Health Sci*, 2005, 51: 538-548.
- [22] SHAO B, HAN H, HU J Y, et al. Determination of alkylphenol and bisphenol A in beverages using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Anal Chimica Acta*, 2005, 530: 245-252.

[收稿日期: 2007-03-11]