

凝胶渗透色谱-高效液相色谱法 检测食用油中邻苯二甲酸酯类的含量

李仁伟,程明川,李想,瞿进,钟红霞,严峻,董丽,唐诗
(四川省产品质量监督检验检疫院,四川成都 610031)

摘要:建立了以凝胶渗透色谱(GPC)和高效液相色谱(HPLC)联用技术检测食用油中邻苯二甲酸酯类含量的方法。样品经GPC处理后,采用乙腈/水体系为流动相,ODS柱分离,PDA检测器检测,检测波长224nm。实验结果:该方法在0.1~8.0mg/L范围内线性关系良好;DMP、DEP、BBP、DBP、DNOP的仪器检出限(S/N=3)分别为10、10、25、50、50 μ g/L,低、中、高三个浓度水平的回收率均在95%~110%之间。结论:该方法准确可靠,精密度较高。
关键词:凝胶渗透色谱(GPC),高效液相色谱(HPLC),邻苯二甲酸酯类

Determination of phthalic acid esters in edible oil by gel permeation chromatography and HPLC spectrometry

LI Ren-wei, CHENG Ming-chuan, LI Xiang, QU Jin, ZHONG Hong-xia, YAN Jun, DONG Li, TANG Shi

(Sichuan Institute of Product Quality Supervision & Inspection, Chengdu 610031, China)

Abstract: The method for determination of phthalic acid esters in edible oil by gel permeation chromatography and HPLC was described. The chromatographic analysis was achieved after the pretreatment by GPC. The separation was performed in a ODS column, acetonitrile-water as mobile phase. A PDA detector was used to detect the compositions at 224nm. The assay linear calibration range was 0.1~8.0mg/L. The limit of quantitation(S/N=3) of DMP, DEP, BBP, DBP, DNOP were 10, 10, 25, 50, 50 μ g/L, respectively. The recoveries at the three spiked levels were ranged from 95% to 110%. The results of repeatability test and reproducibility test provided that this method was repeatable and reproducible.

Key words: gel permeation chromatography(GPC); high performance liquid chromatography(HPLC); phthalic acid esters

中图分类号:TS207.5

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2011)12-0484-03

邻苯二甲酸酯(phthalic acid esters, PAEs)又名酞酸酯,为一类普遍使用的化学工业产品,主要用作塑料的加工助剂之一,即增塑剂(Plasticizer)。PAEs是目前主要的环境有机污染物之一,其毒性及危害是具有微弱的雌激素效应,产生生殖毒性,导致生物繁殖能力下降和生殖器官畸形,还有致突变和致癌作用。欧盟2005/84/EC指令、REACH指令、RoHS指令2.0版,美国2008消费品安全改进法案(CPSIA)以及我国国家标准都针对不同产品严格规定了邻苯二甲酸酯类禁止使用的种类和限量。食品在塑料包装材料中储存的时间越长,或用于包装食品的塑料材料中邻苯二甲酸酯类含量越高,都会加大邻苯二甲酸酯类向食品中迁移的量,即对食品的污染程度越大^[1]。目前,邻苯二甲酸酯类增塑剂的测定方法包

括GC法^[2]、GC-MS法^[3-6]、HPLC法^[7-8]及HPLC-MS法^[9-10]。提取技术主要有超声提取、索氏提取、固相萃取等,但这些方法存在着试剂毒性较大/过程复杂/消耗时间长等缺点。本文首次建立了GPC-HPLC联用检测食用植物油中邻苯二甲酸酯类的方法,此方法简便、准确、灵敏度高、自动化程度高。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

乙酸乙酯(农残级)、环己烷(农残级)、乙腈(色谱级) 美国Sigma公司;邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸丁酯(BBP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP) 美国chemservice公司,增塑剂标准品制备,各取100mg标准品,用乙腈溶解后定容于100mL容量瓶中,配制成浓度为1.0mg/mL的标准储备液。

LC-20AT、PDA检测器(HPLC) 日本岛津公司;凝胶净化色谱仪(GPC) 德国LC-Tech公司;旋

收稿日期:2010-12-15

作者简介:李仁伟(1965-)男,高级工程师,研究方向:食品科学。

基金项目:四川省公益性科技计划项目(2008NG0008)。

表2 回收率的测定(n=3)

组分	加标量(0.5mg/L)			加标量(1.0mg/L)			加标量(2.0mg/L)		
	检测均值 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)	检测均值 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)	检测均值 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
DMP	0.506	101.2	2.4	0.957	95.7	1.8	1.917	95.8	1.1
DEP	0.508	101.6	2.1	1.067	106.7	1.5	2.000	100.0	1.3
BBP	0.505	101.0	2.7	1.091	109.1	1.8	1.988	99.4	1.4
DBP	0.514	102.8	2.5	1.069	106.9	1.4	2.004	100.2	1.5
DNOP	0.490	98.0%	3.2	0.957	95.7	2.1	1.955	97.8	1.9

转蒸发仪 德国 Heildoph 公司; AE-200S 电子天平 瑞士 METTLER TOLEDO 公司。

1.2 色谱条件

色谱柱: intersil ODS-sp(5 μ m 4.6 \times 150mm); 流动相: 乙腈/水体系梯度洗脱 [梯度洗脱程序: 0~6min (乙腈 85%) , 6~7min (乙腈 85% \rightarrow 100%) , 7~17min (乙腈 100%)]; 流速: 1.0mL/min; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 检测波长: 224nm; 进样量 10 μ L。

1.3 实验方法

1.3.1 标准曲线 将邻苯二甲酸酯类标准储备液用乙腈稀释配制成 0.1、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mg/L 的系列混合标准溶液, 进液相色谱分析后, 将所得色谱峰的浓度和对应的峰面积绘制标准工作曲线。

1.3.2 样品处理 称取样品 1.0g (精确至 0.1mg) 用乙酸乙酯-环己烷 (体积比 1:1) 定容至 10.0mL, 混匀, 经凝胶净化色谱仪纯化。进样量为 5mL, 洗脱液为乙酸乙酯-环己烷 (体积比 1:1), 流速 5.0mL/min, 15~30min 收集分离液, 再减压浓缩至近干, 乙腈定容至 5mL, 经过 0.45 μ m 滤膜过滤后, 取 10 μ L 供 HPLC 检测分析。

2 结果与分析

2.1 GPC 条件

对 GPC 的收集时间进行了考察, 当运行时间达到 15min 时, 能彻底去除油脂, 当运行时间达到 30min 时, 对加标样品测定的回收率达到最高值, 且运行时间再增加, 回收率变化不大, 结果表明在本实验条件下, 能较为彻底地除去样品中的油份, 分析时间短, 同时有很好的回收率。

2.2 色谱条件

对吸收波长的考察表明, DMP、DEP、BBP、DBP、DNOP 五种物质均在 224nm 处有最大吸收。对流动相的考察表明, 在相同条件下乙腈/水体系流动相的背景响应低于甲醇/水体系, 对 PAEs 各组分的分离效果更好; 乙腈检测截止波长为 190nm, 低于甲醇的截止波长 205nm, 对色谱图干扰相对较小, 确定选择乙腈/水体系。分别对柱温 25、30、35、40、45 $^{\circ}$ C 进行考察, 结果表明随柱温的升高, 各组分保留时间有一定减小, 响应值略有增加; 随柱温升高, BBP 与 DBP 的色谱峰靠近, 分离度降低; 柱温 35 $^{\circ}$ C 时, BBP 和 DBP 的峰宽也影响了分离度, 只有 40 $^{\circ}$ C 时分离度大于 1.5, 因此, 柱温确定为 40 $^{\circ}$ C。标准色谱图如图 1 所示。

2.3 检出限与线性范围

仪器自动计算 S/N=3 时各组分响应值对应的

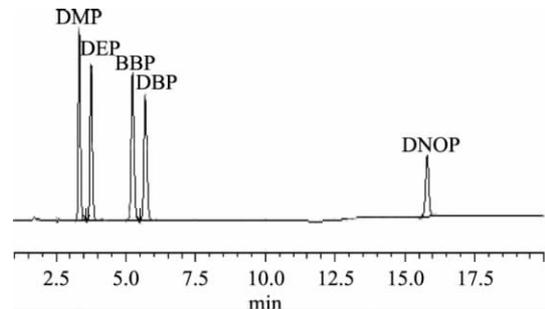


图1 PAEs 标准高效液相色谱图

最低检出浓度分别为 DMP = 9.926 μ g/L、DEP = 12.729 μ g/L、BBP = 26.954 μ g/L、DBP = 47.177 μ g/L、DNOP = 39.211 μ g/L。验证实验表明, 按 3 倍信噪比水平, DMP、DEP 检出限为 10 μ g/L, BBP 检出限为 25 μ g/L, DBP、DNOP 检出限为 50 μ g/L。该结果与仪器直接计算的最低检出浓度基本一致, 确定为仪器的最终检出限。精密吸取 PAEs 各组分标准溶液适量, 制成 0.1、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mg/L 系列水平浓度, 以峰面积为纵坐标, PAEs 各组分浓度为横坐标进行线性回归, 得各标准曲线方程见表 1。结果表明, PAEs 各组分在 0.1~8.0mg/L 范围内线性关系良好。

表1 标准校正曲线

序号	组分	线性方程	相关系数
1	DMP	Y = 25686.0X + 5.43761	0.99998
2	DEP	Y = 24218.6X - 67.5028	0.99999
3	BBP	Y = 27728.4X - 292.799	0.99998
4	DBP	Y = 24801.5X - 204.509	0.99998
5	DNOP	Y = 12230.7X + 334.815	0.99984

2.4 精密度与加标回收率

取同一标准溶液重复进样 6 次, RSD \leq 1%; 对同一加标样品平行处理 6 份, RSD \leq 5%, 实验表明, 方法的精密度良好。将加标量不同的样品应用本方法进行回收率实验 (n=6), 方法的回收率在 95%~110% 之间。

3 结论与讨论

采用凝胶渗透色谱-高效液相色谱联用法检测食用油中的邻苯二甲酸酯类的含量, 方法学实验表明该方法准确可靠, 并采用该方法连同本课题组另建立的 GC-MS 法和 HPLC-MS/MS 法对 157 批次的金属盖玻璃瓶装含油脂类调味品和 192 批次的食用植物油进行了检测, 共有 47 个样品检出邻苯二甲酸酯类物质, 包括 20 个金属盖玻璃瓶装含油脂类调味品和食用植物油 27 个样品, 前者检出主要为 DIBP, (下转第 488 页)

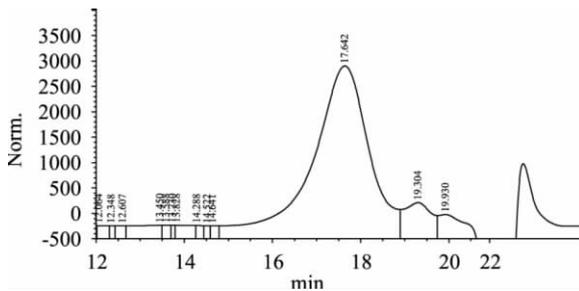


图2 褐藻寡糖 A 色谱图

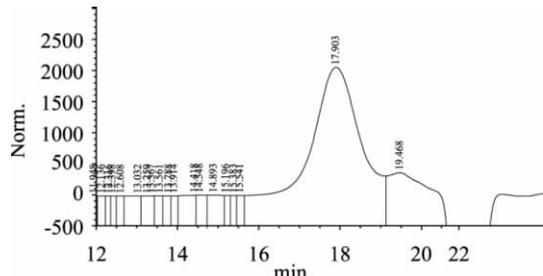


图3 褐藻寡糖 B 色谱图

表3 高效液相色谱法测定的褐藻寡糖分子量

样品编号	H ₂ O ₂ 含量	保留时间 (min)	分子量
A	0	17.642	10666
B	1%	17.903	7935

结果表明,两种方法测得的分子量趋势关系基本相似,但是分子量数值相差较大,乌式黏度法测得的分子量小于高效液相色谱法测得的分子量。

3 结论

本文通过高压降解和氧化降解的方法制备出褐藻寡糖。分别通过乌式黏度法和高效液相色谱法测定其分子量,结果表明两种方法测得的分子量数量关系基本相似,但是分子量数值相差较大,乌式黏度法测得的分子量小于高效液相色谱法测得的分子量。对于测定方法而言,乌式粘度计实验仪器易得,实验条件简单,操作简便,但仪器的使用和清洗费时费力,而且用乌氏粘度计测量其特性粘度值,不能直接求出绝对平均分子量,而是间接地通过经验公式计算,所以会带来较大的误差;另一种方法,HPLC法

具有效率高,速度快,操作简单,灵敏度高,分辨率高,样品用量少,容易回收使用等优点,本文以分子量对数($\lg M_w$)对保留时间(t)进行回归处理,得到线性回归方程: $\lg M_w = -2.0338t + 25.834$, $R^2 = 0.9926$,回归关系较好。综上所述,HPLC法更适合在分子量测定方面的广泛应用。本文为褐藻寡糖分子量的测定工作提供了有利的科学依据。

参考文献

- [1]成跃祖.凝胶渗透色谱法的进展及其应用[J].北京:中国石化出版社,1993,54(11):5-14.
- [2]Hirsh J, Anand SS, Halperin J, et al. Guide to anticoagulant therapy: heparin. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association [J]. Circulation, 2001, 103(24): 2994-3018.
- [3]甘纯玑,林权.褐藻酸钠的高效凝胶色谱行为及其分子量参数测定[J].色谱,1997,15(2):147-149.
- [4]甘纯玑.褐藻酸钠溶液的超声辐照效应及其对分子量参数的影响[J].高等学校化学学报,1995,16(12):1956-1959.
- [5]杨钊,范莹.不同降解方法制备褐藻胶甘露糖醛寡糖的结构特点[J].中国生化药物杂志,2007,28(1):69-71.
- [6]吴扬兰,王远亮,杨亚联,等.GPC-十八角激光光散射联用法测定聚乳酸的分子量及分子量分布[J].现代科学仪器,1997,2(8):87-90.
- [7]刘长福,刘涛,刘秀梅.高效液相色谱法测定香菇多糖的分子量[J].化学工程师,2005,118(7):91-92.
- [8]聂少平,谢明勇,申明月,等.应用高效液相色谱法测定茶叶多糖[J].食品科学,2006,27(4):177-181.
- [9]陈小蒙,刘成梅,刘伟.龙牙百合多糖的纯化及其分子量的测定[J].食品科学,2008,29(11):305-307.
- [10]杨迪.凝胶色谱测定聚合物相对分子质量及其分布[J].现代塑料加工应用,2005,17(6):63-93.
- [11]Olav smidsrød and Arne haug. A light scattering study of alginate[J]. Acta Chemical Scandinavica, 1968, 22: 797-810.
- [12]甘纯玑,林权,等.褐藻酸钠的贮藏稳定性及分子量参数测定[J].药学报,1996,31(12):958-962.
- [13]王赛贞,林树钱,林志彬,等.高效凝胶渗透色谱法测定双灵固本散中多糖肽的峰位分子量[J].中成药,2007,29(9):1386-1388.

(上接第485页)

后者检出为DEHP。统计结果表明,尽管每个时间段内抽检的样品数量不同,但检出率逐渐增加,PAEs组分随贮存时间的延长,其迁移风险也加大。

参考文献

- [1]谈金辉,蒋永祥,孟靖颖.食品包装用塑料制品中六种邻苯二甲酸酯类化合物的测定方法研究[J].分析实验室,2007,26(12):133.
- [2]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.
- [3]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.
- [4]王进,李宣.超声萃取气相色谱-质谱联用法测定塑料中邻苯二甲酸酯类增塑剂及其不确定度评估[J].科学技术与工

程,2009,14(9):1671.

- [5]刘俊,朱然,田延河,等.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.
- [6]何芄.气相色谱-质谱法同时测定橡塑材料中18种邻苯二甲酸酯类增塑剂[J].塑料工业,2010,38(9):60.
- [7]边志忠,戴军,陈尚卫.固相萃取-高效液相色谱法测定塑料桶装食用油中酞酸酯类增塑剂[J].食品与发酵工业,2008,34(5):152.
- [8]陈再洁,杨晓燕,王智,等.HPLC同时测定欧盟限用6种增塑剂的含量[J].广州化工,2010,38(1):151.
- [9]刘红河,黄晓群,李瑞园.食品及塑料食品包装袋中邻苯二甲酸酯类HPLC-MS/MS测定结果分析[J].职业与健康,2009,25(18):1915.
- [10]孙震,姚进.液相-电喷雾质谱法测定PVC玩具中邻苯二甲酸酯类增塑剂[J].检验检疫科学,2005,15(6):40.