

基质固相分散-高效液相色谱法测定蔬菜中邻苯二甲酸酯类*

寇立娟¹, 张玉倩¹, 李兰晓¹, 孔维超¹, 谢惠², 王明林¹

1(山东农业大学食品学院, 山东泰安, 271018) 2(山东农业大学资源与环境学院, 山东泰安, 271018)

摘 要 研究了蔬菜中的邻苯二甲酸二丁酯(di-n-butyl phthalate, DBP)和邻苯二甲酸二辛酯(di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)基质固相分散处理和高效液相色谱测定方法。蔬菜样品经弗罗里硅土和石墨化碳黑研磨均匀后, 用乙酸乙酯淋洗净化。结果表明: DBP 和 DEHP 在 0.1~10mg/L 范围内具有良好的线性, 样品的添加回收率在 86.2%~91.4%, 相对标准偏差 2.9%~4.8%。该方法操作简便经济, 分析速度快, 可适用于大批量样品分析。

关键词 邻苯二甲酸酯, 基质固相分散, 液相色谱法, 蔬菜

邻苯二甲酸酯(phthalic acid esters, PAEs)是生产量大并且难降解的一类有机化合物, 在生产中主要用作 PVC 制品的增塑剂, 邻苯二甲酸二丁酯(di-n-butyl phthalate, DBP)和邻苯二甲酸二异辛酯(di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)是工业中应用较广泛的 2 种酯类。有研究表明, 邻苯二甲酸酯可以在人和动物体内起着类似雌性激素的作用, 扰乱动物体内正常的分泌系统, 并具有致癌、致畸、致突变作用^[1], 我国国家环保总局和美国国家环保总局(EPA)已将 PAEs 列为优先控制的污染物^[2]。

目前用于邻苯二甲酸酯测定的前处理方法主要有固相萃取、固相微萃取和硅胶柱层析等方法^[3~5], 这些方法均存在着溶剂用量大、提取时间长或需要特殊仪器以及分析成本较高等缺点。基质固相分散(matrix solid-phase dispersion, MSPD)是一种新型样品前处理技术, 集样品提取、净化于一体, 操作简便快捷、提取效率高; 目前已应用于农药、黄曲霉毒素、苯并芘等分析^[6~8]。本文以弗罗里硅土为分散剂, 石墨化碳黑为净化剂, 结合高效液相色谱法测定了黄瓜、番茄和甘蓝 3 种蔬菜样品中的 DBP 和 DEHP 含量, 为 PAEs 的研究提供了一种新的分析方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 SPL-10AVP(日本岛津公司); LC-10AT 泵, SCL-10A 控制系统, 紫外检测器; Shim-pack VP ODS C₁₈ 色谱柱(150mm×4.6 mm); Class-VP 色谱工作站; AS3120 超声波清洗

器(南京苏量检测仪器设备有限公司); EYELA 旋转蒸发器(日本东京理化株式会社)。

DBP 和 DEHP 标准品, 美国 Sigma 公司; 甲醇为色谱纯; 无水硫酸钠, 乙酸乙酯均为分析纯。弗罗里硅土(迪马公司, 60~100 目), 石墨化碳黑(进口分装, 兰州中科安泰分析科技有限公司, 80~100 目), 硅胶(国药集团化学试剂公司, 100~200 目), 中性氧化铝(国药集团化学试剂公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制

准确称取 0.1 g DBP 和 DEHP, 用甲醇定容 100 mL, 配制浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液, 4℃保存备用, 使用时逐级稀释至所需的浓度。

1.2.2 样品前处理

取 50 g 蔬菜样品于高速组织捣碎机中打碎, 称取 1.0 g 打碎样品于玻璃研钵中, 加入 2 g 弗罗里硅土和 0.1 g 石墨化碳黑研磨均匀至流体粉末。在层析柱中加 2 g 无水硫酸钠, 然后把研钵中的混合物装柱, 充分装实, 再加 2 g 无水硫酸钠, 加盖滤纸, 压实。用 20 mL 乙酸乙酯少量多次洗涤研钵和研锤, 用洗涤液淋洗层析柱, 控制流速约为 1 mL/min。收集洗脱液, 在 30℃下旋转蒸发至干, 用甲醇定容 1 mL, 过 0.45 μm 滤膜, 留待高效液相色谱分析用。

1.3 色谱条件

色谱柱为 Shim-pack C₁₈(150 mm×4.6 mm); 紫外检测波长 225 nm; 柱温为 30℃; 流动相为甲醇/水(体积比为 88:12); 流速为 0.5 mL/min; 进样量为 20 μL。

2 结果与讨论

2.1 DBP 和 DEHP 的高效液相色谱分析

在上述液相色谱条件下, DBP 和 DEHP 的保留

第一作者: 硕士研究生(王明林为通讯作者)。

* 国家“十五”重大科技专项“食品安全关键技术应用的综合示范”项目(No. 2001BA804A29)

收稿日期: 2007-01-08, 改回日期: 2007-04-18

时间分别为 5.063、8.461 min, 色谱图见图 1。由图 1 可知, DBP 和 DEHP 能够很好分离, 在 10 min 内可完成样品的测定。

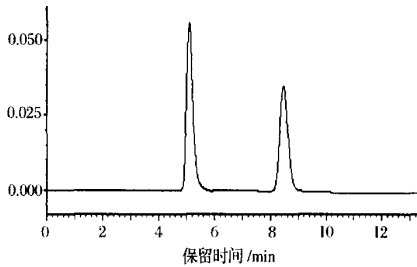


图 1 DBP 和 DEHP 的高效液相色谱图

2.2 基质固相分散条件的优化

戴树桂等人^[9]在测定环境水样时采用固相萃取柱富集水样中的邻苯二甲酸酯, 用乙酸乙酯作淋洗剂, 得到了较好的回收率。因此, 本研究首先以乙酸乙酯为淋洗剂, 比较了弗罗里硅土、硅胶和中性氧化铝三种固相分散剂对蔬菜中色素的保留效果, 试验发现, 3 种分散剂对样品中色素的保留效果较差, 提取液的颜色较深, 因此在样品处理过程中加入 0.1 g 石墨化碳黑净化; 3 种分散剂-石墨化碳黑对黄瓜样品中 DBP 和 DEHP 添加回收率(1.0 mg/kg)的影响见图 2。从图 2 可以看出, 中性氧化铝和硅胶的添加回收率较低; 而弗罗里硅土的添加回收率较高, 可满足回收率分析的基本要求, 因此, 本实验采用弗罗里硅土-石墨化碳黑作为固相分散剂和净化剂。

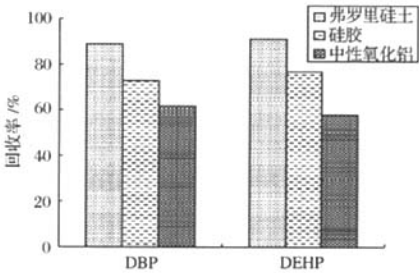


图 2 不同基质材料对黄瓜样品 DBP 和 DEHP 回收率的影响

2.3 淋洗剂及用量的选择

以弗罗里硅土为基质分散剂, 石墨化碳黑为净化剂, 试验了甲醇、乙酸乙酯和正己烷对 DBP 和 DEHP (1.0 mg/kg) 的淋洗效果(见图 3)。从图 3 可以看出, 乙酸乙酯对 DBP 和 DEHP 的提取效果比甲醇和正己烷好, 因此本实验确定乙酸乙酯为淋洗剂。

图 4 为乙酸乙酯不同淋洗体积(分别为 5、10、

15、20、25 和 30 mL)对 DBP 和 DEHP(1.0 mg/kg)添加回收率的影响。从图 4 可以看出, 随着乙酸乙酯体积的增大, DBP 和 DEHP 的回收率增大, 当淋洗剂体积>20 mL 时, 增幅趋于平缓, 因此本实验确定乙酸乙酯体积为 20 mL。

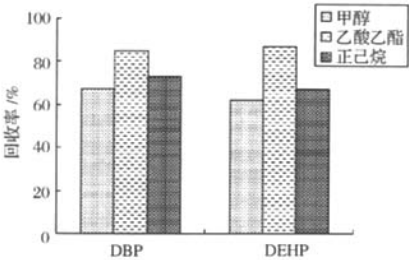


图 3 淋洗剂对 PAEs 提取效率的影响

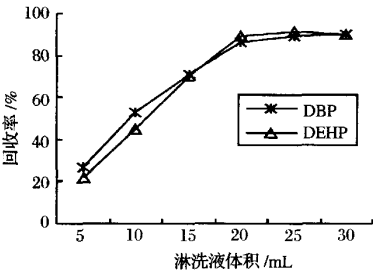


图 4 乙酸乙酯用量对 DBP 和 DEHP 回收率的影响

2.4 添加回收率及精密度

准确称取黄瓜、番茄、甘蓝样品 1.0 g, 分别加入不同量的 DBP 和 DEHP 标准品, 经 2.0 g 弗罗里硅土和 0.1 g 石墨化碳黑提取, 用 20 mL 乙酸乙酯淋洗, 高效液相色谱法测定方法的回收率, 其结果见表 1。从表 1 可以看出, DBP 和 DEHP 的添加回收率能够满足痕量分析的要求, 说明该分析方法是可行的。

表 1 DBP 和 DEHP 在蔬菜样品中的回收率及精密度(n=3)

PAEs	添加量 /mg · kg ⁻¹	黄瓜	番茄	甘蓝
		回收率%±RSD%		
DBP	0.1	88.2±3.1	86.2±3.9	89.0±3.5
	1.0	89.0±4.0	88.0±3.3	90.8±4.8
	10.0	91.1±2.9	90.0±2.6	90.4±3.9
DEHP	0.1	87.4±4.2	88.1±3.6	88.9±4.0
	1.0	87.9±3.7	87.7±3.1	90.7±2.6
	10.0	89.2±2.9	90.1±3.0	91.4±4.3

2.5 工作曲线及方法检出限

用甲醇配制浓度为 0.1、0.5、1、5、10 mg/L 的 DBP 和 DEHP 的混合标准溶液, 进高效液相色谱分析(n=3), 以峰面积 Y 对质量浓度 X(mg/L)进行线

性回归,线性方程、相关系数和检出限见表 2。

表 2 DBP 和 DEHP 的线性方程、相关系数及检出限

PAEs	线性方程	相关系数(r)	检出限(mg/L)
DBP	$Y=34416X-112.36$	0.999 2	0.02
DEHP	$Y=24783X+29.442$	0.999 8	0.015

2.4 样品测定

利用本方法测定了黄瓜、番茄和甘蓝 3 种蔬菜样品中 DBP 和 DEHP 的含量,每种设 3 个重复(图 5 为黄瓜样品色谱图),测定结果见表 3。

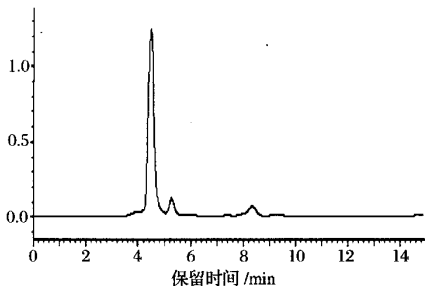


图 5 黄瓜样品的高效液相色谱图

表 3 蔬菜样品中 DBP、DEHP 的含量(mg/kg)及精密度(%)

PAEs	黄瓜	番茄	甘蓝
DBP	0.342 ± 4.2	0.212 ± 4.9	0.391 ± 2.9
DEHP	0.411 ± 3.9	0.309 ± 5.1	0.604 ± 3.0

3 结 论

参照国内外有关分析方法,建立了以弗罗里硅土-石墨化碳黑为基质分散剂和净化剂,乙酸乙酯为淋洗剂的基质固相分散前处理方法,并结合高效液相色谱

定性定量测定 3 种蔬菜样品中 DBP 和 DEHP。实验结果表明:DBP 和 DEHP 添加回收率在 86.2%~91.4%,相对标准偏差 2.9%~4.8%。本方法样品前处理简便快速,不需要特殊的仪器设备,有机溶剂用量很少,成本低,方法的推广性强。

参 考 文 献

- 1 张 敏,吴素芳,邱建辉,等. 几种主要塑料添加剂的毒性规律[J]. 应用化工, 2006, 35(9): 712~714
- 2 金朝晖,李红亮,柴英涛. 酞酸酯对人与环境的危害[J]. 上海环境科学, 1997, 16(12): 39
- 3 贾 宁,许恒智,胡亚丽,等. 固相萃取-气相色谱法测定北京市水样中的邻苯二甲酸酯[J]. 分析试验室, 2005, 24(11): 18~19
- 4 曾锋,陈丽旋,崔昆燕,等. 硅胶-氧化铝层析柱-气相色谱法测定沉积物中邻苯二甲酸酯有机物[J]. 分析化学, 2005, 33(8): 1 063~1 065
- 5 王超英,李碧芳,李攻科,等. 固相微萃取/高效液相色谱联用分析水样中邻苯二甲酸酯[J]. 分析测试学报, 2005, 24(5): 35~38
- 7 Yan Yun Hu, Ping Zheng, You Zhao Hea. Response surface optimization for determination of pesticide multiresidues by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2005 (1098): 188~193
- 7 刘宏程,黎其万,刘家富. 基质固相分散-高效液相色谱法测定植物油中的痕量苯并[a]芘[J]. 色谱, 2006, 24(4): 415.
- 8 郑 屏,盛旋,余晓峰. 基质固相分散液相色谱法检测辣椒产品中的黄曲霉毒素[J]. 色谱, 2006, 24(1): 62~63
- 9 戴树桂,张东梅,张仁江,等. 固相萃取技术预富集环境水样中邻苯二甲酸酯[J]. 环境化学, 2000, (3): 66~68

Matrix Solid-phase Dispersion for the HPLC Determination of Phthalic Acid Esters in Vegetables

Kou Lijuan¹, Zhang Yuqian¹, Li Lanxiao¹, Kong Weichao, Xie Hui², Wang Minglin¹

¹(College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

²(College of Resources and Enviroment, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

ABSTRACT A method based on matrix solid-phase dispersion (MSPD) and High Performance Liquid Chromatography. (HPLC) to determine di-n-butyl phthalate(DBP) and di-2-ethylhed exyl phthalate(DEHP) in vegetables was described. The method required Florisil as dispersant sorbent, graphitizand carbon black as purification material and ethyl acetate as eluting solvent. The result showed that linear response over DBP and DEHP was good from 0.1 to 10mg/kg, recoveries of spiked samples ranged from 86.2% to 91.4% and relative standard deviations were from 2.9% to 4.8%. The method was simple, fast and proper for preparation of large number of samples.

Key words phthalic acid esters, matrix solid-phase dispersion, HPLC, vegetables