

气相色谱-质谱法测定植物油中壬基酚含量

云鹏, 路杨, 刘印平*, 陈福尊, 王丽英

(河北省疾病预防控制中心, 石家庄 050021)

摘要: 目的 建立气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)检测植物油中壬基酚(4-nonylphenol, 4-NP)的分析方法, 了解市售植物油中壬基酚的污染状况。**方法** 样品加入乙腈提取液, 超声提取、固相萃取柱净化、七氟丁酸酐衍生化后, 采用GC-MS进行检测, 同位素内标法定量。**结果** 在线性范围5~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 内, 方法回归方程为 $Y=7.78\times 10^{-3}X$, 相关系数为0.9991。方法的检出限为3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限9.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加标回收率范围为75.7%~107.4%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为5.5%~9.7%。共检测50份市售植物油样品, 其中26份植物油样品检出4-NP, 检出率为52%, 含量范围为3.21~28.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 中位值为3.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。**结论** 此方法灵敏度较高, 可用于植物油中4-NP的准确定量。检测数据表明, 植物油样品壬基酚检出率较高, 因此对其含量的监测不容忽视。

关键词: 壬基酚; 植物油; 衍生; 同位素内标; 气相色谱-质谱法

Determination of 4-nonylphenol in vegetable oil by gas chromatography-mass spectrometry

YUN Peng, LU Yang, LIU Yin-Ping*, CHEN Fu-Zun, WANG Li-Ying

(Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050021, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 4-nonylphenol (4-NP) in vegetable oil by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and to understand the pollution status of 4-NP in vegetable oil. **Methods** The samples were extracted with acetonitrile by ultrasound, purified by solid phase extraction column, and derivatized with heptafluorobutyric anhydride. The samples were detected by GC-MS and quantified by isotope internal standard method. **Results** In the linear range of 5–200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the regression equation was $Y=7.78\times 10^{-3}X$, and the correlation coefficient was 0.9991. The limit of detection was 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the limit of quantitation was 9.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recoveries ranged from 75.7% to 107.4%, and the relative standard deviations (RSDs) ranged from 5.5% to 9.7%. Totally 50 commercial vegetable oil samples were detected, 4-NP was detected in 26 samples, the detection rate was 52%, the content range was 3.21–28.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the median value was 3.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** This method is simple and sensitive, and can be used for the accurate determination of 4-NP in vegetable oil. The detection data shows that the detection rate of nonylphenol in vegetable oil samples is high, so the monitoring of its content should not be ignored.

KEY WORDS: 4-nonylphenol; vegetable oil; derivatization; isotope internal standards; gas chromatography-mass spectrometry

*通信作者: 刘印平, 副主任技师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: liuyinping0930@163.com

*Corresponding author: LIU Yin-Ping, Associate Chief Technician, Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050021, China. E-mail: liuyinping0930@163.com

0 引言

壬基酚(4-nonylphenol, 4-NP)是一种持久性有机污染物,属于典型的酚类内分泌干扰物,对机体的内分泌、生殖系统、免疫系统都有不良影响^[1-2]。其具有雌激素活性和毒性、难降解性、生物累积性,是壬基酚聚氧乙烯醚(nonylphenol ethoxylates)较为稳定的降解产物之一。壬基酚聚氧乙烯醚作为一种方便易得的活性剂,被广泛用于塑料加工中^[3]。在生活中,塑料食品包装材料因为廉价、方便等特点,有着广泛的应用。壬基酚可能从食品塑料包装材料直接迁移到接触的食品中^[4],因此食品包装材料的安全性和稳定性,直接影响到被接触的食品,进而影响消费者身体健康。我国是世界上生产和消费壬基酚的大国,其在食品中的污染正引起人们的广泛关注。

目前,针对壬基酚可能产生的生态环境风险相关研究较多,但壬基酚在食品及其食品包装材料中的检测技术研究还比较缺乏^[5-7],因此,有必要开展食品中壬基酚的相关检测。由于壬基酚在液相色谱检测方法中存在着相互干扰的现象,分离效果欠佳^[8]。而气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)具有较高的选择性和灵敏度,且 GC-MS 维护成本相对较低,应用广泛。所以国内外关于壬基酚的相关研究主要是集中在气相色谱-质谱联用技术上^[9-11]。但目前,国内尚未有植物油中壬基酚的国家或行业检测标准,相关文献资料也甚少。本研究利用 GC-MS 测定了植物油中壬基酚含量,对前处理工艺进行了优化,使用乙腈为提取液,超声提取,使用 SILICA/PSA 玻璃混合型固相萃取柱作为前处理净化技术,七氟丁酸酐衍生化。同时,本研究调查了河北市场植物油中壬基酚的污染情况,以期为加强河北市场中壬基酚风险系数大的食品及食品包装材料的监管和控制提供参考。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 样品

从石家庄当地的超市和农贸市场随机进行采样,共采集 50 份植物油样品。基本涵盖了市场上销售的各类常见类型,包括花生油、大豆油、玉米油、葵花籽油、橄榄油、菜籽油和调和油等。样品采集后编号并记录,常温保存,尽快检测。

1.1.2 仪器

DSQ II 型气相色谱质谱仪(美国 Thermo 公司); DB-5MS 色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm, 美国安捷伦科技有限公司); JJ600 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂); KQ-600 E 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); 3-30K 高速台式离心机(美国 Sigma 公司); N-EVAP 112 氮吹仪(美国

Organomation 公司); SILICA/PSA 玻璃混合型固相萃取柱(1.0 g/6 mL, 美国 Waters 公司); 101-2AB 电热恒温鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.1.3 试剂及标准溶液

乙腈、丙酮、二氯甲烷(色谱纯,德国默克公司); 4-NP(1 mg/mL)、4-NP-d₈ 标准品(1 mg/mL)(美国 Cambridge 公司); 衍生试剂:七氟丁酸酐(纯度 98%,百灵威科技有限公司); 实验所用水均一级水。

1.2 实验方法

1.2.1 气相色谱条件

载气:高纯氮(纯度 ≥ 99.999), DB-5 MS 色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 载气流量:1.0 mL/min; 进样口温度:260 °C, 进样量:1 μL, 不分流; 升温程序:初始柱温:100 °C, 保持 3 min, 以 10 °C/min 升温至 270 °C, 保持 3 min, 后运行温度 300 °C, 保持 5 min。

1.2.2 质谱条件

接口温度:280 °C; 离子源温度:230 °C; 电离方式:电子轰击源; 监测方式:选择离子监测(selected ion monitoring, SIM)。监测离子条件如表 1 所示。

表 1 壬基酚监测离子
Table 1 Monitoring ions of nonylphenol

保留时间/min	化合物	定性离子	定量离子
13.32	d8-4-壬基苯基七氟丁酸酯	308, 424	309
13.36	4-壬基苯基七氟丁酸酯	275, 304, 416	303

1.2.3 样品前处理

(1) 样品提取、净化

称取 0.5 g(准确到 0.01 g)植物油于 10 mL 具塞玻璃试管中,加 200 μL 1.0 mg/L 内标应用液混匀,加 2 mL 乙腈,漩涡混匀 1 min,静置分层(或 3000 r/min 以上离心 5 min 分层),乙腈相待净化。

取 SILICA/PSA 玻璃混合型固相萃取柱,先依次使用 5 mL 二氯甲烷和 5 mL 乙腈活化固相萃取柱,然后取上述 2 mL 处理后的提取液添加到活化后的固相萃取柱上,同时用试管收集,待样品过柱后再用 5 mL 乙腈洗脱,合并收集后的洗脱液在 60 °C 条件下用氮吹至干。

(2) 衍生

用 200 μL 丙酮溶解残留物,加入 60 μL 七氟丁酸酐,在 60 °C 烘箱中放置 20 min,取出冷却后加入 2 mL 1% 碳酸氢钠溶液,混匀,静置约 5 min 后,加入 1.0 mL 正己烷:乙酸乙酯混合溶液(4:1, V:V),漩涡混匀 1 min,静置分层,取上层有机相进行 GC-MS 分析。

1.2.4 标准曲线绘制

取一定量的 4-NP 标准品,用正己烷稀释,配制成一

定浓度的标准储备液, 于 4 °C 冰箱中保存。

将标准储备液进一步稀释, 配制成混合标准使用溶液(5、10、20、50、100、200 ng/mL), 其中内标 4-NP-d8 的浓度为 200 ng/mL。

在上述实验条件下, 壬基酚混合标准溶液进行衍生、提取、分析测定, 内标法计算标准曲线。植物油样品中壬基酚含量计算方法为:

$X=(c \times V)/m$, 其中 c 为样品测定液中壬基酚浓度, ng/mL; V 为测定液体积, mL; m 为取样量, g。

1.2.5 未检出数据的处理

按照 WHO 全球环境监测系统/食品污染监测与评估规划第二次会议“食品中低水平污染物可信评鉴”中对未检出数据的标准对数据进行处理^[12]。根据上述规定, 对于

样品中壬基酚含量的实测值小于检出限(limit of detection, LOD)的比例 ≤ 60% 时, 则采取对于所有低于 LOD 的检测结果, 赋予 1/2LOD 值后统计处理。

2 结果与分析

2.1 方法优化

目前国内关于植物油中壬基酚检测的相关方法较少, 且尚未有相应的国家或行业检测标准, 本研究借鉴相关文献, 并对前处理方法进行了优化。本研究向样品中加入乙腈提取液, 并采用超声提取法对样品进行提取, 此外, 本研究使用七氟丁酸酐对样品进行衍生化, 此条件下色谱图峰形区分度良好。标准溶液和样品的色谱图如图 1 和图 2 所示。

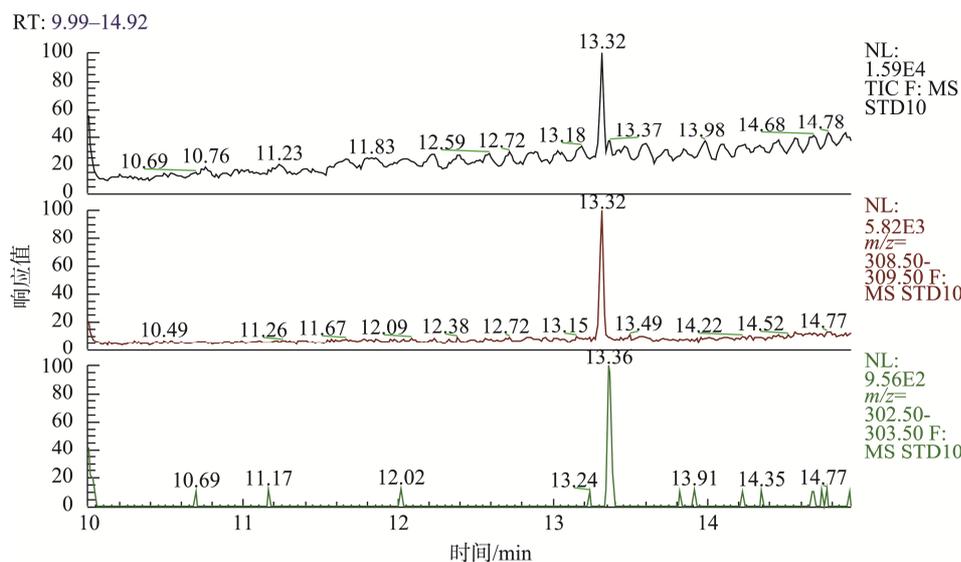


图 1 标准溶液中 4-壬基苯基七氟丁酸酐及内标 d₈-4-壬基苯基七氟丁酸酯总离子流图及质量色谱图
Fig.1 Total ion chromatogram and mass chromatogram of standards of 4-nonylphenylheptafluorobutanoate and d₈-4-nonylphenylheptafluorobutanoate

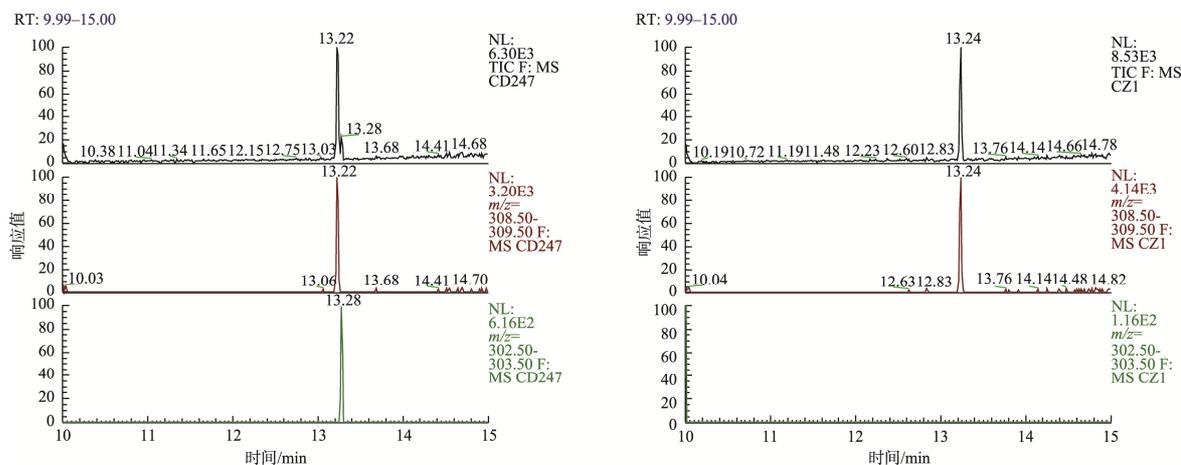


图 2 阳性样品及阴性样品总离子流图及质量色谱图
Fig.2 Total ion chromatograms and mass chromatograms of positive samples and negative samples

2.2 方法的线性范围和检出限

结果显示, 壬基酚在 5~200 ng/mL 浓度范围内呈现良好的线性关系, 回归方程为 $Y=7.78 \times 10^{-3}X$, 相关系数为 0.9991; 方法检出限为 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (信噪比 $S/N=3$), 定量下限为 9.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 可见方法的灵敏度较高。

2.3 方法的回收率和精密度

为了保证分析结果的准确, 实验所用器具都采用玻璃材质, 并在使用前均在马弗炉中烘烤。在分析每批样品时, 同时进行过程空白实验和平行测定, 并以空白植物油样品作为加标基质进行加标回收实验。在上述实验条件下, 添加高中低 3 个水平(5、20、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)的标准溶液, 每个添加水平平行测定 6 次, 进行壬基酚的加标回收率和精密度的测定。如表 2 结果显示, 加标回收率范围为 75.7%~107.4%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 5.5%~9.7%之间, 说明方法稳定可靠, 重现性好。

2.4 实际样品检测样品

本研究采用上述方法测定了市售的 50 份植物油样品壬基酚, 其中 26 份检出含有 4-NP, 检出率为 52.0%。检出率从高到低依次为葵花籽油、菜籽油(检出率 100%), 花生油、玉米油、调和油(检出率为 66.7%), 大豆油(检出率为 40%), 橄榄油、茶油、棉籽油均未检出。对于不同的包装类型, 定型包装样品检出率为 50%, 散装样品检出率为 66.7%。阳性样品的壬基酚含量范围为 3.21~28.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 浓度范围在 5.00~10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 内的比率最高,

占比 57.7%。可见, 植物油样品壬基酚检出率较高, 因此对其含量的监测不容忽视。不同类型植物油及其阳性样品的数量如图 3 所示。

本研究中壬基酚含量的实测值小于 LOD 的比例为 48%(小于 60%), 则对于所有低于 LOD 的检测结果, 赋予 1/2LOD 值后进行统计处理。如图 4 所示, 中位值为 3.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 上四分位值为 7.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 下四分位值为 1.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其中葵花籽油、调和油中壬基酚含量相对较高, 在未来的监管中应给予重点关注。

3 结论与讨论

本研究建立了植物油中壬基酚的检测方法, 采用乙腈提取液和超声提取的方式对样品进行处理, 并在七氟丁酸酐衍生化后, 采用 GC-MS 进行检测。此方法灵敏度和精密度均较高, 可用于植物油中 4-NP 的准确定量。此外, 本研究对河北省市售植物油中壬基酚的污染状况进行了调查, 在本文所述条件下, 52%被测样品中均检出壬基酚, 然而, 我国目前尚缺乏壬基酚的限量标准。近年来, 随着人们对食品安全的重视, 如壬基酚这样脂溶性环境激素的调查也逐渐增加^[13-15]。我国在 2011 年才首次将其列入禁止进出口的有毒化学品目录, 但没有 4-NP 使用的限制标准, 更没有系统全面地对 4-NP 进行过风险评估。因此, 建议开展全国范围内主要食品和包装产品中壬基酚污染状况的调查, 进一步了解壬基酚的污染情况, 同时加强对壬基酚风险系数较大的食品的监管和控制, 保障我国的食品安全。

表 2 不同浓度下壬基酚的加标回收率($n=6$)

Table 2 Recovery results of 4-nonylphenol at different concentrations ($n=6$)

加标水平/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%						相对标准偏差%
5	91.3	89.3	94.6	102.8	90.5	75.7	9.7
20	106.1	97.3	107.4	96.7	94.0	103.6	5.5
50	88.2	103.4	105.8	99.8	103.4	102.6	6.3

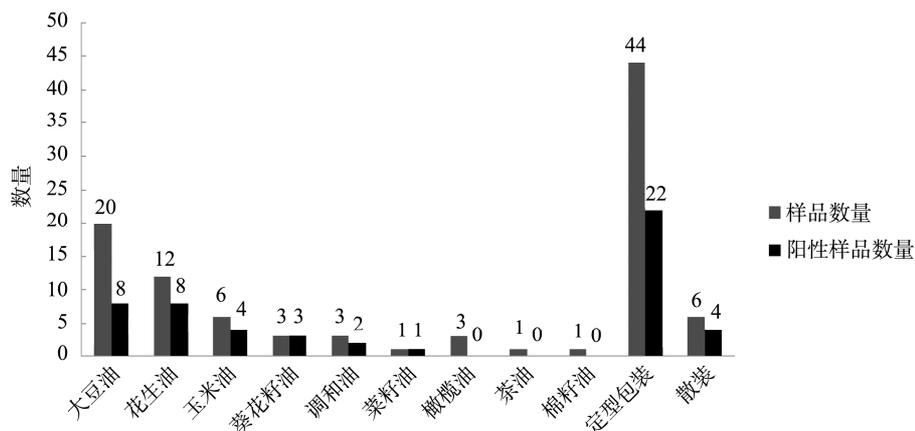


图 3 不同类型植物油及其阳性样品的数量

Fig.3 Numbers of different types of vegetable oils and positive samples

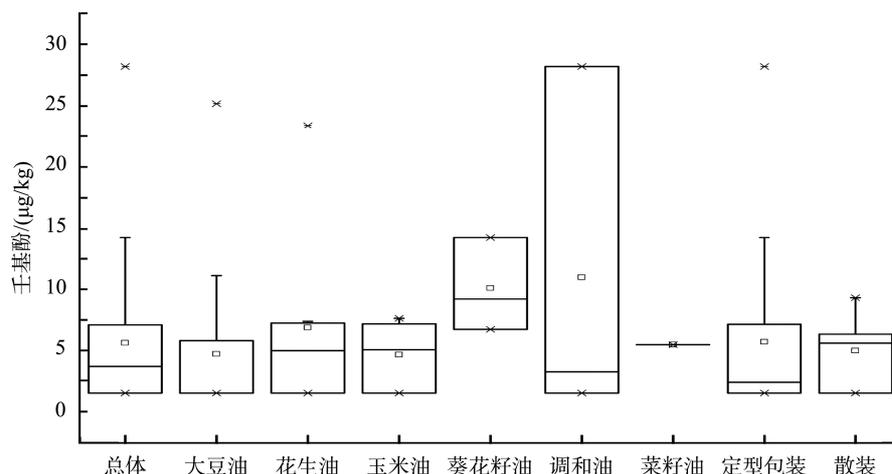


图 4 壬基酚含量箱式图

Fig.4 Box-plot of concentrations of 4-NP

参考文献

- [1] 谢明勇, 刘晓珍, 陈洪杰. 壬基酚在食品中的污染现状及其生物毒性概述[J]. 食品科学技术学报, 2014, 32(1): 1-7.
XIE MY, LIU XZ, CHEN YJ. Review on exposure level of nonylphenol in food and related biological toxicity profile [J]. J Food Sci Technol, 2014, 32(1): 1-7.
- [2] 冯凯琳, 张鹏洲, 申去非, 等. 壬基酚对雄性大鼠生精功能及相关激素和酶的影响[J]. 解放军药学报, 2002, 28(3): 189-192.
FENG LK, ZHANG PZ, SHEN QF, *et al.* Effect of nonylphenol on spermatogenesis function serum hormone and testicular enzyme of male rats [J]. Pharm J Chin PLA, 2002, 28(3): 189-192.
- [3] 江敏, 彭自然, 安世杰, 等. 4-壬基酚对三种水生生物的毒性影响[J]. 水生生物学报, 2006, 30(4): 489-492.
JIANG M, PENG ZR, AN SJ, *et al.* Toxic effects of 4-nonylphenol on three aquatic organisms [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2006, 30(4): 489-492.
- [4] 戴智勇, 莫红卫, 彭喜洋, 等. 壬基酚在食品和食品包装材料中暴露及迁移至食品的情况综述[J]. 农残品加工, 2007, 1: 81-87.
DAI ZY, MO HW, PENG XY, *et al.* A summary of nonylphenol exposure in food packaging materials and migrate to food [J]. Farm Prod Process, 2007, 1: 81-87.
- [5] 张庆, 白桦, 马强, 等. 塑料食品包装材料中壬基酚的风险评估[J]. 食品工业科技, 2011, (9): 340-343.
ZHANG Q, BAI H, MA Q, *et al.* Risk assessment of nonylphenol in plastic food contact materials [J]. Sci Technol Food Ind, 2011, (9): 340-343.
- [6] YASUI A, OISHI M, ISHIKAWA F, *et al.* Migration of nonylphenol from plastic food packaging into foods [J]. Chemobio Integrat Manag, 2008, (4): 43-48.
- [7] SHAO B, HU J, YANG M, *et al.* Nonylphenol and nonyl-phenol ethoxylates in river water, drinking water, and fish tissues in the area of Chongqing, China [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2005, 48(4): 467-473.
- [8] 王艳, 于滢, 芮昶, 等. 食品及食品包装材料中壬基酚和辛基酚的危害及检测技术的研究[J]. 广东化工, 2013, 40(3): 75-76.
WANG Y, YU Y, RUI C, *et al.* Study on the hazards and detection technology of nonylphenol and octylphenol in food and food packaging materials [J]. Guangdong Chem Ind, 2013, 40(3): 75-76.
- [9] 黄成, 姜理英, 陈建孟, 等. 固相萃取衍生化气相色谱-质谱法测定制药厂污水中的环境雌激素[J]. 色谱, 2018, 26(5): 618-621.
HUANG C, JIANG LY, CHEN JM, *et al.* Determination of environmental estrogens in pharmacy wastewater using solid-phase extraction-gas chromatography/mass spectrometry with derivatization [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 26(5): 618-621.
- [10] ZHANG ZL, HIBBERD A, ZHOU JL. Optimisation of derivatisation for the analysis of estrogenic compounds in water by solid-phase extraction gas chromatography-mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2006, 1(1): 52-61.
- [11] HERNANDO MD, MEZCUA M, GOMEZ MJ, *et al.* Comparative study of analytical methods involving gas chromatography-mass spectrometry after derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of selected endocrine disrupting compounds in waste waters [J]. J Chromatog A, 2004, 1(1): 129-135.
- [12] 王绪卿, 吴永宁, 陈君石. 食品污染物监测低水平数据处理问题[J]. 中华预防医学杂志, 2002, 36(4): 278-279.
WANG XQ, WU YN, CHEN JS. The low data processing problems in food contaminants monitoring [J]. Chin J Prev Med, 2002, 36(4): 278-279.

(责任编辑: 韩晓红)

- [13] 何宁, 刘伟杰, 孙东, 等. 典型环境激素壬基酚对水产品安全性的影响 [J]. 生态科学, 2013, 32(5): 654-659.

HE N, LIU WJ, SUN D, *et al.* Environmental hormones nonylphenol aquatic product ecology safety [J]. *Ecol Sci*, 2013, 32(5): 654-659.

- [14] 刘丽, 郑志伟, 罗展纲, 等. 蔬菜中酚类物质污染情况调查分析[J]. 中国中医药咨讯, 2011, 3(17): 423-452.

LIU L, ZHENG ZW, LUO ZG, *et al.* Investigation on pollution situation of phenolic substances in the vegetables [J]. *J China Tradit Chin Med Inform*, 2011, 3(17): 423-452.

- [15] HU J, JIN F, WAN Y, *et al.* Trophodynamic behavior of 4-nonylphenol and nonylphenol polyethoxylate in a marine aquatic food web from Bohai bay, north China: Comparison to DDTs [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, 39(13): 4801-4807.

作者简介



云 鹏, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: yunpeng2014@foxmail.com



刘印平, 副主任技师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: liuyinping0930@163.com

“天然产物综合利用与检测”专题征稿函

天然产物是指由动物、植物或昆虫、海洋生物和微生物体内分离出来的生物二次代谢产物及生物体内源性生理活性化合物。近年来随着养生理念逐渐深入人心, 天然产物对健康促进作用的相关研究也获得了越来越多的关注。此外, 茶多酚、香辛料、壳聚糖、细菌素等天然产物在食品的护色保鲜领域也起着重要的作用。我国是天然资源大国, 也是应用天然产物历史最悠久的国家之一。如何充分发挥我国的资源优势, 从而更好地利用我国丰富的自然资源, 是亟待解决问题。

鉴于此, 本刊特别策划了“天然产物综合利用与检测”专题。专题将围绕天然产物的作用机理、分离鉴定、分析提纯、活性评价以及天然产物综合利用与检测等, 或您认为本领域有意义的问题综述及研究论文均可, 专题计划在 2021 年 4 月出版。

本刊主编国家食品安全风险评估中心吴永宁研究员与本专题主编吕兆林教授特邀请有关食品领域研究人员为本专题撰写稿件, 综述、研究论文和研究简报均可。请在 2021 年 4 月 1 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题**天然产物综合利用与检测**):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者

登录-注册投稿-投稿栏目选择“2021 专题: **天然产物综合利用与检测**”)

邮箱投稿: E-mail: jfoodsq@126.com(备注: **天然产物综合利用与检测**专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部