

保健食品中邻苯二甲酸二异辛酯快速筛查的 定性定量分析方法

朱小红*, 陈蓓, 朱建荣, 林芳, 刘海静

(陕西省食品药品检验所, 西安 710065)

摘要: **目的** 建立保健食品中邻苯二甲酸二异辛酯(diisooctyl phthalate, DEHP)快速筛查的定性定量分析方法。**方法** 样品经无水乙醇超声提取后, 采用气相色谱-质谱联用法在选择离子扫描模式下进行定量检测。**结果** DEHP在0.01070~10.70 µg/mL范围内具有良好的线性关系, 相关系数为0.9987, 该方法检出限(LOD)为0.02 µg/g, 定量限(LOQ)为0.07 µg/g。加标回收率为73.8%~96.8%; **结论** 该法简便、快速、准确, 溶剂用量少, 可用于保健食品中DEHP的检测。

关键词: 邻苯二甲酸二异辛酯; 气相色谱-质谱联用法; 快速筛查方法; 保健食品; 定性定量分析

The method of rapid screening, qualitative and quantitative analysis for diisooctyl phthalat in health food

ZHU Xiao-Hong*, CHEN Bei, ZHU Jian-Rong, LIN Fang, LIU Hai-Jing

(Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710065, China)

ABSTRACT: Objective To develop a gas chromatograph-mass spectrometry method for rapid screening, qualitative and quantitative analysis of diisooctyl phthalat in health food. **Methods** Samples were ultrasonically extracted by ethanol and analyzed by LC-MS/MS. Mass data acquisition was conducted under selected ion scan mode. **Results** The method showed a good linearity in the range of 0.01070~10.70 µg/mL ($r>0.9987$) for diisooctyl phthalats. The limit of detection of this method was 0.02 µg/g ($S/N=3$). The limit of quantitative of this method was 0.07 µg/g ($S/N=10$). The recoveries were 73.8%~96.8%. **Conclusion** This method is convenient, fast, accurate, reliable to operate, and it is suitable for the determination of diisooctyl phthalat in health food.

KEY WORDS: diisooctyl phthalate; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); fast screening method; health food; qualitative and quantitative analysis

为进一步加强保健食品安全监管, 提高产品质量安全水平, 不仅要加强检验检测标准体系建设, 同时需增加风险控制体系研究。保健食品在生产加工过程中会引入外源性风险物质, 造成保健食品安全质

量隐患。邻苯二甲酸酯类化合物(phthalates, PAEs)是食品包装材料常用的增塑剂, 被广泛用于医疗卫生用品、油漆等工业产品中, 环境、饮用水中也存在极其微量的邻苯二甲酸二异辛酯(DEHP)等邻苯二甲酸

*通讯作者: 朱小红, 副主任药师, 主要研究方向为食品和保健食品质量安全检测与标准研究。E-mail: 742653574@qq.com

*Corresponding author: ZHU Xiao-Hong, Vice Director Pharmacist, Shaanxi Institute for Food and Drug Control, No.21, Kejiwu Road, Gaoxin District, Xi'an 710065, China. E-mail: 742653574@qq.com

酯类物质, 是典型的环境雌激素^[1-6]。通常情况下, 人群日常暴露水平极低, 对人体健康尚无明显影响。邻苯二甲酸酯类物质具有内分泌干扰作用, 长期大量摄入将影响生殖和发育^[7]。目前, 保健食品中塑化剂的检测和限量无相关的具体标准, 在工作中参考执行有关食品中塑化剂的检测标准和文献^[8-12], 卫生部 2011 年 6 月 1 日公布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(第 6 批), 邻苯二甲酸二正辛酯等 17 种邻苯二甲酸酯类物质列为食品中可能违法添加的非食用物质, 其中未涉及 DEHP 的检测和限量。有关增塑剂 DEHP 的检测文献报道甚少, 有必要建立保健食品中 DEHP 增塑剂的检测方法。

目前标准及文献^[13]中常用的增塑剂前处理检测方法为乙酸乙酯/三氯甲烷提取, 或者采用固相微萃取-气相色谱检测技术, 但存在有机溶剂毒性大、成本高、操作繁琐, 易造成较大的试剂空白。超声波提取法具有提取时间短、提取率高, 适用性广泛的特点^[14]。本实验以无水乙醇为溶剂, 采用超声萃取对样品进行前处理, 气相色谱-质谱(gas chromatograph-mass spectrometry)法建立保健食品中 DEHP 的检测方法, 此方法检测限能达到相关的增塑剂限量标准, 可完善邻苯二甲酸酯类物质的检测标准, 并为保健食品的安全性和增塑剂的风险评估提供了基础数据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

日本岛津 SHIMADZU QP2010 气相色谱-质谱联用仪, 配有 NIST05、NIST05s、WILEY7 标准质谱库; 美国 Agilent DB-5 ms (0.25 mm×30 mm×0.25 μm) 弹性石英键合毛细管色谱柱; AE240 电子分析天平(上海梅特勒公司); HH-S6 电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器公司)。

标准品 DEHP(批号为: 03312KZ-1, 100.0%)购于 AccuStandard 公司; 无水乙醇为色谱纯(美国 ACS 公司)。

54 批保健食品均为市售样品。

1.2 实验条件

气相条件: 色谱柱: DB-5 ms 弹性石英键合毛细管色谱柱(0.25 mm×30 mm×0.25 μm); 进样口温度 280 °C; 接口温度 300 °C; 升温程序: 初始温度

120 °C, 保持 1 min, 以 30 °C/min 升至 240 °C, 保持 0 min, 最后以 25 °C/min 升至 280 °C, 保持 10 min; 载气(He, 纯度大于 99.99%)流速 1.5 mL/min, 进样量 1.0 μL; 不分流进样; 采用恒压模式, 柱压 135 kPa。

质谱条件: 电子轰击(EI)离子源; 电子能量: 70 eV; 离子源温度为 250 °C; 质量扫描范围为 50~600 amu; 扫描方式: 全扫描; 溶剂延迟时间: 2.5 min。

1.3 标准品溶液的配制

精密称取适量的 DEHP 标准品, 加无水乙醇溶解配制浓度为 1.070 mg/mL 的标准品储备液, 于 0~4 °C 下保存; 临用时, 加无水乙醇稀释至对照品浓度为 107.0 μg/mL。作为标准品使用液。

1.4 供试品溶液的制备

固体样品: 取供试品(胶囊剂取 10 粒内容物, 片剂取 4 片, 颗粒剂取 1 袋, 丸剂取 10 粒)均研细, 取细粉约 1 g(精确至 0.0001 g)置于 50 mL 刻度玻璃管中, 向其中加入无水乙醇 25 mL, 超声功率 600 W, 提取 30 min, 静置 15 min 后, 取上清液过 0.22 μm 有机滤膜, 作为供试品溶液, 待进样分析。

液体样品: 取供试品 10 mL 于 50 mL 蒸发皿中, 沸水浴蒸干, 向残渣中加入 25 mL 无水乙醇, 超声功率 600 W, 提取 30 min, 静置 15 min 后, 取上清液过 0.22 μm 滤膜, 作为供试品溶液, 待进样分析。

2 结果与分析

2.1 DEHP 的初筛定性鉴别

取 54 批次供试品按“1.3”项下方法处理和测定, 采用 Scan 全谱扫描模式对供试品进行初筛。以待测供试品色谱峰的保留时间和特征离子为依据, 与标准质谱库 NIST05、NIST05s、WILEY7 数据检索结果相对照, 初筛结果发现 24 批次供试品(口服液剂 13 批、胶囊剂 5 批、片剂 4 批、颗粒剂 1 批、丸剂 1 批)异常。再经标准品确证为 DEHP, 结果见图 1、图 2, 标准谱库信息见表 1。

2.2 标准曲线、方法检出限(LOD)及定量限(LOQ)

2.2.1 标准曲线

取“1.3”项下的标准品使用液, 用无水乙醇分别稀释成浓度为 0.01070、0.5350、2.675、5.350、10.70 μg/mL 系列标准溶液, 分别进样 1 μL, 根据目标物的保留时间和特征离子, 采用 SIM 模式对特征离子

进行扫描,以定量离子的峰面积 Y 为纵坐标,质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标绘制工作曲线,得到线性回归方程。结果表明,DEHP 在 $0.01070\sim 10.70\ \mu\text{g/mL}$ 范围内,标准品浓度与峰面积有良好的线性关系。

2.2.2 方法检出限(LOD)

根据检出限为基线噪音的 3 倍,将“2.2”项下浓度为 $0.01070\ \mu\text{g/mL}$ 系列标准溶液稀释 25 倍(浓度为 $0.4280\ \text{ng/mL}$),进样 $1\ \mu\text{L}$,计算方法检出限结果见表 2。

2.2.3 方法定量限(LOQ)

根据定量限为基线噪音的 10 倍,将“2.2”项下浓度为 $0.0107\ \mu\text{g/mL}$ 系列标准溶液稀释 8 倍(浓度为 $1.338\ \text{ng/mL}$),进样 $1\ \mu\text{L}$,计算方法定量限结果

见表 2。

2.3 精密度试验

取“2.2”项下的标准品系列溶液(浓度为 $5.350\ \mu\text{g/mL}$),在上述 GC-MS 色谱条件,连续进样 6 次,测定峰面积,结果表明 DEHP 峰面积的 RSD 为 1.2%,小于 3.0%,精密度良好。

2.4 稳定性试验

精密吸取上述“1.4”项下的供试品溶液 $1\ \mu\text{L}$,在“1.2”项检测条件下,分别在 0、4、8、12、24、48 h 不同时间下测定峰面积,所测得供试品溶液峰面积的 RSD 为 2.4%,说明本方法检测 DEHP 供试品溶液的稳定性良好。

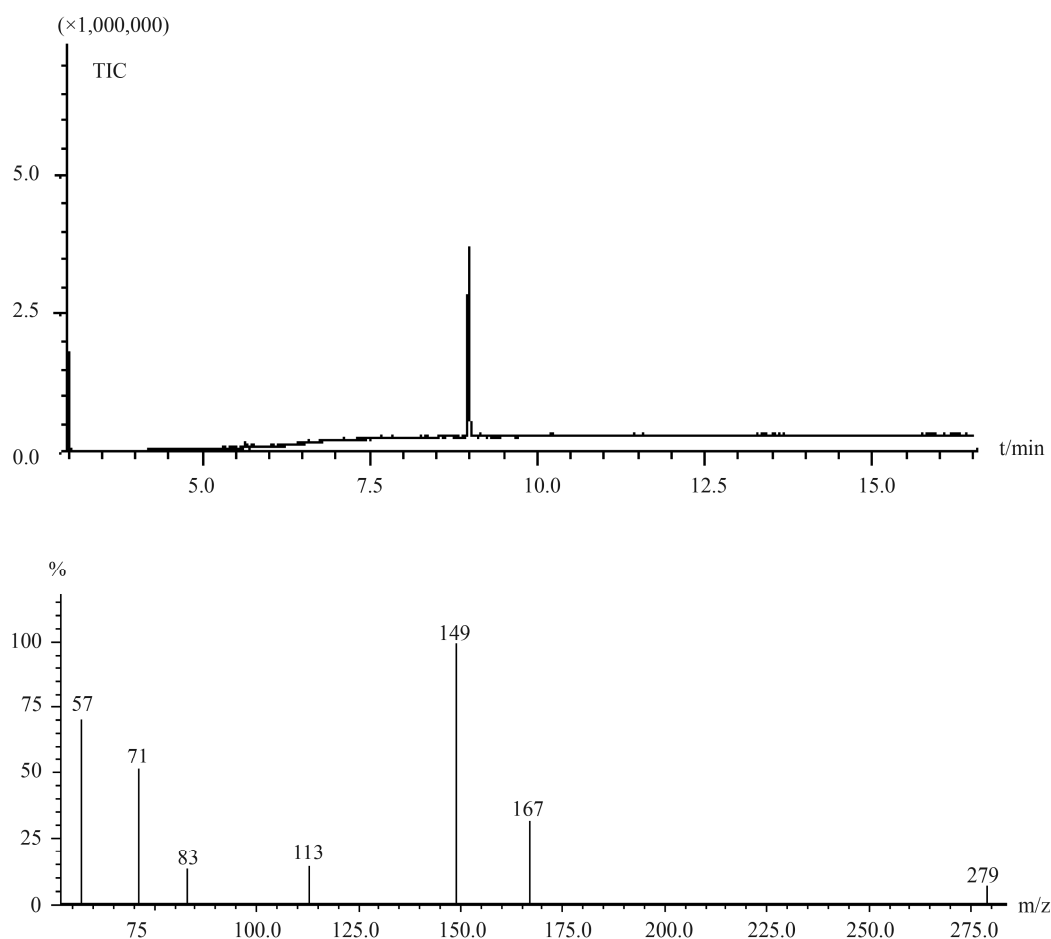


图1 DEHP 对照品全扫描色谱图和相关质谱图

Fig. 1 The total ion chromatogram and the mass spectra of diisooctyl phthalats

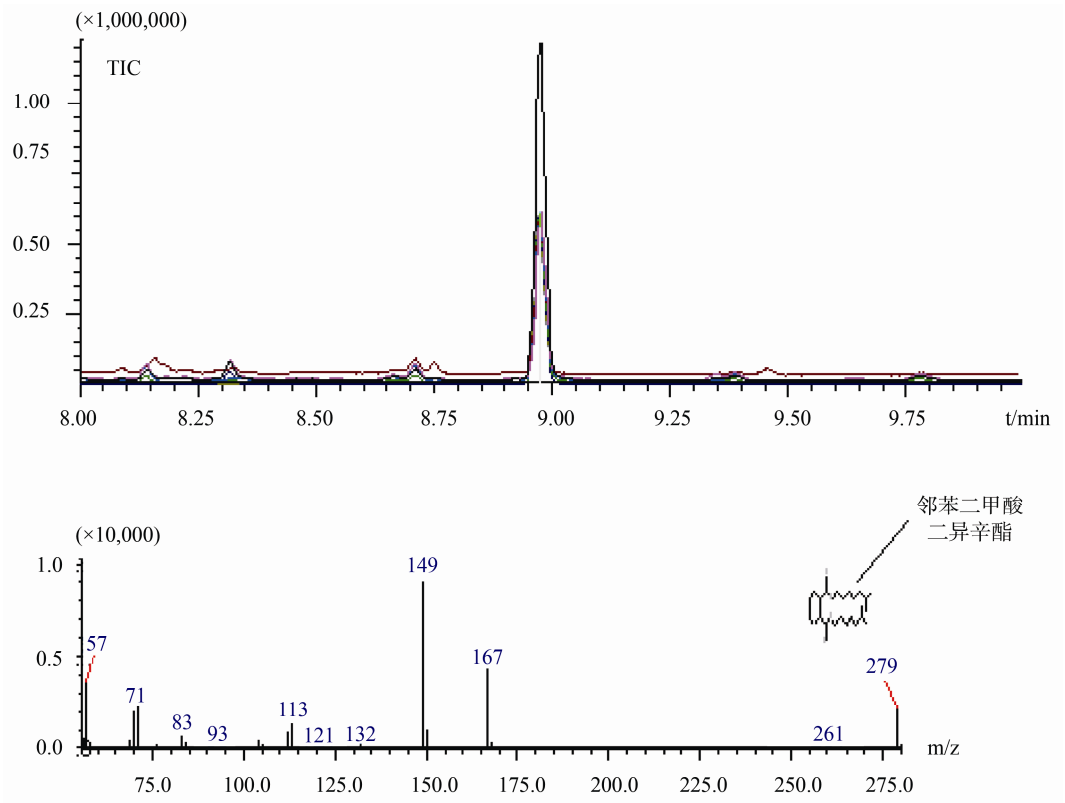


图 2 20 号样品 SIM 图和谱库检索结果

Fig. 2 The SIM chromatogram and the spectral library search results of sample No. 20

表 1 标准谱库信息

Table 1 Library of reference substance

成分	相对分子质量	可选溶剂	相对保留时间	主要碎片离子	定量离子
DEHP	390.56	乙醇	8.983	57,149,167	149

表 2 DEHP 的线性方程、相关系数和检出限

Table 2 Linear regression equations, correlation coefficient and LOD of diisooctyl phthalate

名称	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	线性方程	相关系数/r	检出限(LOD)/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	定量限(LOQ)/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
DEHP	0.0107~10.700	$Y=659197.3X-43934.0$	0.9987	0.02	0.07

2.5 回收率试验

取胶囊剂、片剂、颗粒剂、口服液及丸剂供试品各 1 批, 每批 3 份, 分别精密称取各供试品约 0.5 g(精确至 0.0001 g), 向其中加入低、中、高浓度(加标量见表 3)的 DEHP 标准品溶液, 分别对不同剂型供试品进行添加回收试验, 按照“1.3”项下方法制备和测定供试品溶液, 重复测定 3 次, 计算平均回收率及相对标准偏差(RSD), 结果见表 3。结果表明平均回收率为 73.8%~96.8%, 相对标准

偏差(RSD)小于 3%。不同剂型品种的基质效应不影响定性、定量分析, 提取回收率稳定, 方法适用性较好。

2.6 阳性样品定量检测

采用 SIM 方式对初筛的阳性样品进行定量检测, 按“1.3”项下方法处理和测定样品, 用对照品的特征离子作为化合物的监测离子, 根据定量离子的峰面积和曲线回归方程, 计算样品中 DEHP 的残留量, 检测结果见表 4, 色谱图见图 3 和图 4。

表 3 加样回收率试验结果
Table 3 Result of recovery test (n=3)

组分	样品剂型	本底值/ μg	加标量/ μg	测得样品中平均含量/ μg	平均回收率/%	RSD/%
DEHP	胶囊剂	4.33	3.74	7.41	83.8	2.8
		4.33	4.32	8.08	88.4	2.4
		4.33	5.42	8.74	81.5	2.1
	片剂	2.99	2.43	4.82	75.0	1.6
		2.99	3.04	5.33	76.7	2.4
		2.99	3.61	5.92	80.6	1.2
	颗粒剂	11.5	7.99	17.4	73.8	1.7
		11.5	11.0	19.7	74.5	2.0
		11.5	13.2	21.9	78.8	2.6
	口服液	3.96	3.17	7.03	96.8	1.3
		3.96	3.96	7.69	94.2	0.8
		3.96	4.75	8.28	90.9	1.1
	丸剂	29.8	22.8	50.9	92.5	1.2
		29.8	28.5	56.6	94.0	1.6
		29.8	34.2	62.0	94.2	0.9

表 4 阳性样品 DEHP 含量测定结果
Table 4 The determination results of diisooctyl phthalates of positive samples

样品剂型	胶囊剂	片剂	颗粒剂	口服液	丸剂
固体剂/($\mu\text{g/g}$)	3.54~176	5.94~58.6	21.9	1.80~9.14	54.3
液体剂/($\mu\text{g/mL}$)					

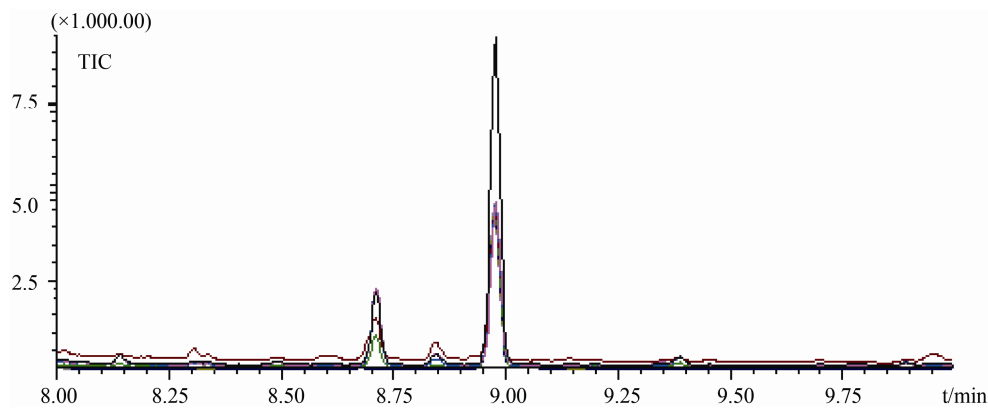


图 3 2 号样品 SIM 图
Fig. 3 The SIM chromatogram of sample No. 2

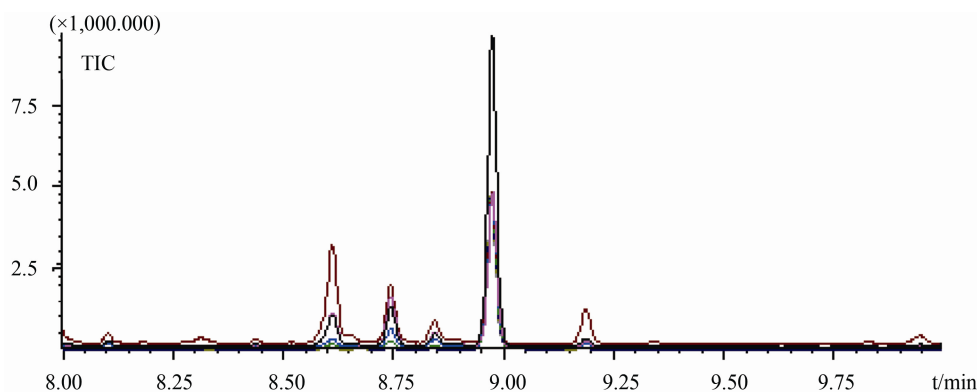


图 4 10 号样品 SIM 图

Fig. 4 The SIM chromatogram of sample No. 10

3 结 论

本研究建立的保健食品中 DEHP 的前处理和检测方法, 简单、灵敏度高、稳定性好, 完全可以满足保健食品中 DEHP 的检测要求。对完善邻苯二甲酸酯类物质的检测标准及保健食品的安全性和增塑剂的风险评估提供了基础数据。

本次研究共收集不同剂型保健食品 54 批(片剂 18 批、胶囊剂 11 批、颗粒剂 1 批、丸剂 2 批、口服液剂 22 批), 其中 24 批样品(口服液剂 13 批、胶囊剂 5 批、片剂 4 批、颗粒剂 1 批、丸剂 1 批)中检测出 DEHP, 且含量存在着差异性。其中 2 号、10 号样品(胶囊剂)中 DEHP 含量较高。

研究结果表明, 5 种剂型保健食品中均检出了 DEHP, 推断污染物不仅在储存过程中有微量增塑剂从包装材料中迁移到产品中, 而且还由外环境通过各种途径进入保健食品中。因此, 建议通过对保健食品中增塑剂的检测建立相关标准, 将 DEHP 列入违法添加的增塑剂中, 并对其来源进行限量控制。

参考文献

- [1] Mariko M, Mutsuko HK, Makoto E. Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: A review of recent studies on reproduction [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2008, 50: 37–49.
- [2] Kang Y, Walter D, Hsunling B, *et al.* Direct quantitative analysis of phthalate esters as micro-contaminants in cleanroom air and wafer surfaces by auto-thermal desorption gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2005, 1070: 137–145.
- [3] Oscar B, Alberto Z, Alberto N, *et al.* Sensitive gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of phthalate esters, alkylphenols, bisphenol A and their chlorinated derivatives in wastewater samples [J]. J Chromatogr A, 2006, 1121: 154–162.
- [4] 张小辉, 王晓雁. 气相色谱-质谱联用法测定土壤中邻苯二甲酸酯类增塑剂[J]. 岩矿测试, 2010, 29(5): 531–534.
Zhang XH, Wang XY. Determination of phthalate ester plasticizer in soils by gas chromatography- mass spectrometry [J]. Rock Miner Anal, 2010, 29(5): 531–534.
- [5] Holadová K, Prokúpková G, Hajšlová J, *et al.* Headspace solid-phase microextraction of phthalic acid esters from vegetable oil employing solvent based matrix modification [J]. Anal Chem Acta, 2007, 582: 24–33.
- [6] 蔡晶, 柴丽月, 胡秋辉. 食品中邻苯二甲酸酯的检测及安全评价[J]. 食品科学, 2005, 26(12): 242–245.
Cai J, Chai LY, Hu QH. Detection and safety evaluation of phthalic acid esters in food [J]. Food Sci, 2005, 26(12): 242–245.
- [7] 赵文红. 酞酸酯类增塑剂毒理研究进展[J]. 环境与职业医学, 2003, 20 (2): 135–138.
Zhao WH. Advances in toxicological studies on plasticizers of phthalate esters [J]. J Labour Med, 2003, 20 (2): 135–138.
- [8] GB/T 21911-2008 食品中邻苯二甲酸酯的测定[S].
GB/T 21911-2008 Determination of phthalate esters in food.[S].
- [9] GB/T 21928-2008 食品塑料包装材料中邻苯二甲酸酯的测定[S].
GB/T 21928-2008 Determination of phthalate esters in food plastic packaging materials [S].
- [10] 吴惠勤, 朱志鑫, 黄晓兰, 等. 不同类别食品中 21 种邻苯二甲酸酯的气相色谱-质谱测定及其分布情况的研究[J]. 分析测试学报, 2011, 30(10): 1079–1087.

- Wu HQ, Zhu ZX, Huang XL, *et al.* Study on determination of 21 phthalate acid esters and their distributions in different types of foods by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2011, 30(10): 1079–1087.
- [11] 李艳松, 陈铁英, 黄宝临, 等. 食品中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物的气相色谱测定方法[J]. *食品与机械*, 2012, 28(1): 105–108.
- Li YS, Chen TY, Huang BL, *et al.* Determination of 16 kinds of food phthalate esters by gas chromatography [J]. *Food Mach*, 2012, 28(1): 105–108.
- [12] 王连珠, 王瑞龙, 刘溢娜, 等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱测定罐头食品中 6 种邻苯二甲酸酯 [J]. *理化检验*, 2008, 44(6): 502–506.
- Wang LZ, Wang RL, Liu YN, *et al.* Determination of phthalates in canned food by dispersive solid phase extraction- GC-MS [J]. *Phys Test Chem Anal*, 2008, 44(6): 502–506.
- [13] 刘杰, 白妮. GC-MS 法测定食用油中邻苯二甲酸酯类物质的含量[J]. *粮油食品科技*, 2012, 20(4): 24–30.
- Liu J, Bai N. Determination of phthalic acid esters in edible oil by GC-MS [J]. *Sci Technol Cereals Oils Food*, 2012, 20(4): 24–30.
- [14] 庞世敏, 袁敏, 赵桂兰, 等. 气相色谱法测定邻苯二甲酸酯类增塑剂的研究[J]. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 2010(4): 70–74.
- Pang SM, Yuan M, Zhao GL *et al.* Determination of phthalate plasticizers by gas chromatography [J]. *J South China Normal Univ (Nat Sci Edit)*, 2010(4): 70–74.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



朱小红, 食品室主任, 副主任药师, 主要研究方向为食品和保健食品质量安全检测与标准研究。

E-mail: 742653574@qq.com

“果蔬保健成分及采后质量与安全控制”专题征稿

果蔬产品是人类日常生活的必需品, 事关人类的营养和健康安全。各种采后因素对果蔬产品的营养和质量安全有很大影响, 对其在生产阶段和加工、包装、储运等采后阶段进行质量安全风险控制, 建立和完善符合中国国情的农产品冷链物流, 制定高效、可靠、便捷、低成本的农产品追溯系统显得越来越必要和紧迫。

鉴于此, 《食品安全质量检测学报》特别策划了“果蔬保健成分及采后质量与安全控制”专题, 由渤海大学化学化工与食品安全学院和沈阳农业大学食品学院的冯叙桥教授担任专题主编, 围绕果蔬安全质量控制理论与技术、化学危害等各类危害控制、果蔬生理代谢变化的体系和微生物病害变化体系的动态监测、果蔬加工过程质量控制、不同加工方式对果蔬品质的影响、果蔬加工过程有害物在线监测与控制、果蔬品质识别技术、加工过程关键控制点数字化在线实时分析技术、果蔬营养保健成分提取、功能鉴别、果蔬加工过程质量与安全管理等或您认为本领域有意义的问题进行论述, 计划在 2013 年 12 月份出版。

本刊编辑部及冯教授特邀请各位专家为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2013 年 11 月 10 日前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部