

磁分散萃取-液相色谱法测定食品接触材料中 3种酚类物质迁移量

郭萌萌, 刘雪卉, 吕运开*, 马俊琴

(河北大学化学与环境科学学院, 保定 071002)

摘要: **目的** 合成一种表面多孔结构的磁性微球, 用于食品包装材料迁移物的吸附富集, 实现高灵敏度检测痕量组分。 **方法** 采用一锅法合成羧基化磁性微球, 再经自组装法制备磁性金属有机骨架复合材料, 并以此作为萃取剂, 建立磁分散萃取-高效液相色谱法分离分析聚碳酸酯(PC)水杯中酚类化合物迁移量的新方法。 **结果** 平均回收率为 85.36%~95.47%, 相对标准偏差(RSD, $n=5$)为 1.28%~5.64%, 检出限和定量限分别为 1.24~2.14 ng/mL 和 4.15~7.12 ng/mL。 **结论** 该合成方法简便可行, 其磁性复合微球吸附性能好。该萃取和检测方法具有操作简便快速、富集倍数较高、灵敏度和准确度较好的特点, 适用于酚类化合物的分离分析。

关键词: 磁性金属有机骨架; 磁分散萃取; 高效液相色谱法; 食品接触材料; 酚类

Determination of migration of three kinds of phenolic compounds from food contact materials using magnetic dispersion extraction-high performance liquid chromatography

GUO Meng-Meng, LIU Xue-Hui, LV Yun-Kai*, MA Jun-Qin

(College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

ABSTRACT: Objective To synthesize a kind of magnetic microspheres with porous surface for adsorption enrichment and highly sensitive analysis of the migration of phenols from food packaging material. **Methods** Carboxylated magnetic microspheres were synthesized by one pot method, and then magnetic metal-organic frameworks (MOFs) were prepared by layer self-assembly technique. The MOFs were used as adsorbent for magnetic dispersion extraction of migratory quantity of phenolic compounds from polycarbonate bottles. **Results** The average recoveries were in the range of 85.36%~95.47% with the RSD of 1.28%~5.64%. The limits of detection and quantitation of the proposed method were in a range of 1.24~2.14 ng/mL and 4.15~7.12 ng/mL, respectively. **Conclusion** The synthetic method of the magnetic MOFs is simple and feasible, and its adsorption performance is satisfactory. The extraction and detection method is simple, rapid and high enrichment factors with satisfactory precision and accuracy, and is suitable for the separation and analysis of the phenolic compounds.

KEY WORDS: magnetic metal-organic frameworks; magnetic dispersion extraction; high performance liquid

基金项目: 国家自然科学基金项目(21375032)、河北省自然科学基金项目(B2016201213)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (21375032) and Natural Science Foundation of Hebei Province (B2016201213)

*通讯作者: 吕运开, 教授, 主要研究方向为食品安全分析。E-mail: lvyunkai@hbu.edu.cn

*Corresponding author: LV Yun-Kai, Professor, College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, 180 Wusi Road, Baoding 071002, China. E-mail: lvyunkai@hbu.edu.cn

chromatography; food contact materials; phenols

1 引言

随着人们对食品安全问题的关注,食品包装材料的安全性也日益成为引起世界各国广泛关注的焦点。在食品包装材料中,塑料制品的使用最为普遍。塑料制品在加工过程中常加入一些添加剂来改善其功能和特性,这些小分子的助剂或塑料降解的单体残存在食品包装材料中,当与食品接触时,这些物质会通过渗透、吸收或溶解等过程迁移至食品中,进而污染食品。双酚 A (BPA)作为一种典型的环境激素类化合物,可以通过食品包装材料进入食品或饮料中,进而进入动物体或人体^[1],造成内分泌系统、免疫系统或神经系统出现异常,还会严重干扰动物或人类的生殖遗传功能^[2,3]。苯酚是有机化工工业的基本原料,研究表明苯酚对人体皮肤、黏膜有强烈的刺激腐蚀作用,会损害胃肠、肝脏、肾脏等器官的功能;饮用苯酚污染的水会增加人体腹泻、口腔溃疡的发病率^[4]。不同国家和地区对食品接触材料中一些酚类物质迁移到食品模拟物中都有限量规定。如欧盟委员会法规 No10/2011 对食品接触材料中对叔丁基苯酚和双酚 A 的迁移限量规定分别是 0.05 mg/kg 食品模拟物和 0.6 mg/kg 食品模拟物^[5]。

目前,酚类的测定已有多种方法,如分光光度法^[6]、气相色谱法与气相色谱-质谱法^[7]、高效液相色谱法^[3,4,8]、液相色谱-质谱法^[9,10]等。分光光度法操作简单,主要用于测定酚类总量;对于快速分离检测各种酚类物质,色谱法具有显著优势。但由于酚类物质沸点较高难挥发,且高温下不稳定易分解,利用气相色谱法需要衍生化^[11],操作步骤繁琐,故液相色谱法更受青睐。由于酚类化合物在食品接触材料中向食品模拟物迁移浓度较低,一般情况下,测定时需采用萃取技术如液-液萃取^[12]、固相(微)萃取^[3,4,9,10]等进行富集。固相萃取技术以其有机溶剂消耗量小、易于在线联用等优点得到广泛应用^[8]。为了克服固相萃取技术操作繁琐、吸附柱容易堵塞、重复性差等问题,磁分散萃取技术(MDE)以其操作简单、萃取效率高等优点获得迅速发展^[13],其发展重点是发展高富集能力的磁性吸附剂。

本研究将新型多孔材料——金属有机骨架化合

物(MOFs)引入到磁性粒子表面,构建一种磁性核-壳复合材料($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{ZIF-67}$),并以此为磁分散萃取的吸附剂,建立磁分散萃取-高效液相色谱法测定食品接触材料中双酚 A、苯酚和间苯二酚等酚类物质(迁移至乙酸乙酯-甲醇中的量)的分析方法。对影响萃取的因素进行探讨,并将该方法应用于 PC 杯中酚类物质迁移的定量分析。PC 制品的实样检测表明,本方法操作简单、高效、检出限低,适用于样品的快速分析。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

PC 杯:当地超市购买;双酚 A、苯酚和间苯二酚的纯度均大于 99%,购于天津市恒兴化学试剂制造有限公司;2-甲基咪唑购于阿拉丁试剂(上海)有限公司;其他试剂均为分析纯或色谱纯。实验用水为超纯水。

2.2 仪器与设备

Shimadzu LC-20A 液相色谱仪:配有 SPD-20A 紫外检测器(日本岛津公司)。Venusil XBP C18 色谱柱(250×4.6 mm, 5 μm)(中国博纳艾杰尔公司);石英双重纯水蒸馏器(宁波新芝公司);超声波清洗器(上海申生公司)。色谱条件:流动相:甲醇和 pH 4.5 的乙酸-乙酸铵缓冲溶液等度洗脱,进样量:10 μL;流速:1.0 mL/min;柱温:常温;紫外检测波长:278 nm。

2.3 方法

2.3.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4\cdot\text{ZIF-67}$ 吸附剂的制备

将 8.1 g 的 $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶解于 150 mL 乙二醇中,磁力搅拌,待完全溶解后,加入 14.4 g 无水 NaAc 和 1.5 g 柠檬酸钠,搅拌 12 h,转入到 100 mL 不锈钢反应釜中,200 °C 下反应 10 h 后,冷却至室温,外加磁铁分离沉淀物,得到的黑色 Fe_3O_4 纳米球分别用大量蒸馏水和无水乙醇洗涤后,放入真空干燥箱中,60 °C 下干燥 12 h^[14]。称取 0.1000 g Fe_3O_4 磁性微球,分散于 30 mL 甲醇中,当温度升至 70 °C 时,加入 0.1190 g $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 0.2460 g 2-甲基咪唑,将混合液反应 30 min。当冷却至室温后,用磁铁分离上清液并倒掉,在反应物中继续加入 30 mL 甲醇,产物经磁铁分离,并用大量甲醇洗涤,得到包覆 ZIF-67 的磁性核-壳微球,将制得的 MOFs 材料在 80 °C 下干燥 12 h。

2.3.2 标准工作储备液的配置

分别称取双酚 A、苯酚和间苯二酚各 100 mg 至烧杯中, 精确至 0.0001 g, 先用 10 mL 甲醇溶解, 随后转移至 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 得到 3 种酚类浓度为 100 mg/L 的混合标准储备液。另取 1.0 mL 1000 mg/L 的上述溶液, 转移至 100 mL 容量瓶中, 用甲醇溶液定容, 配成 10 mg/L 的标准工作储备液。根据需要用甲醇或 pH 为 4.5 的乙酸-乙酸铵缓冲溶液逐级稀释成适当浓度的混合工作液, 现用现配。

2.3.3 样品预处理

将 PC 水杯剪成 5 cm×2 cm 长条, 按照 2 mL/cm² 的浸泡标准, 称取 5 块样品于带塞的锥形瓶中, 用 200 mL 乙酸乙酯甲醇(1:1, V:V)分两次于 40 °C 超声提取, 每次提取 20 min, 将提取液转移至烧瓶中, 50 °C 减压浓缩至干, 以 10 mL 甲醇溶解残渣, 待磁分散萃取富集。

磁分散萃取富集过程: 将 50 mg Fe₃O₄@ZIF-67 微球溶于 5 mL 甲醇和二氯甲烷的混合溶液中(4:1, V:V), 超声 5 min, 量取 2.0 mL Fe₃O₄@ZIF-67 分散液加入到上述残渣溶解液中, 再用 3 mL 甲醇洗脱, 收集洗脱液, 在 40 °C 水浴中氮吹至干后, 用甲醇定容到 1 mL, 过 0.22 μm 有机滤膜, 经高效液相色谱仪分析。

3 结果与分析

3.1 金属有机骨架复合材料的表征

羧酸化 Fe₃O₄ 和 Fe₃O₄@ZIF-67 的透射电镜表征结果如图 1 所示, Fe₃O₄ 纳米粒子表面变得粗糙, 黑色部分为 Fe₃O₄ 核, 浅色的部分为 ZIF-67 外壳, 核-壳结构明显, 并且从中可以看出其粒径均匀, 粒径约为 400 nm, 多孔材料厚度为 50 nm。

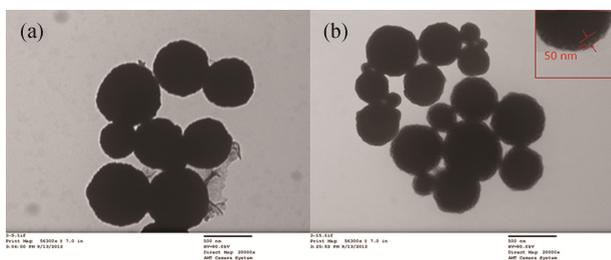


图 1 磁性复合 MOFs 的透射电镜图

Fig. 1 The TEM image of Fe₃O₄ functionalized with carboxylic acid group (a) and Fe₃O₄@ZIF-67 (b)

图 2 为 Fe₃O₄ 纳米粒子、ZIF-67 和 Fe₃O₄@ZIF-67 的 PXRD 图。通过分析可知, 在衍射角为 9.3°、35.7°、43.35°、57.3°和 62.59°处出现了特征衍射峰, 其分别归属于 Fe₃O₄ 晶体的(111)、(311)、(400)、(511)和(440)晶面, 通过对比单晶数据库可知, 其衍射峰与标准卡片中所指示的 XRD 数据一致, 因此可推断成功合成 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子。在 Fe₃O₄ 粒子的表面包覆一层 ZIF-67 时, 在 Fe₃O₄ 纳米粒子的特征衍射峰基本不变的条件下, 又出现了 ZIF-67 的特征衍射峰。综上, 可以推断出成功合成了 Fe₃O₄@ZIF-67 材料。

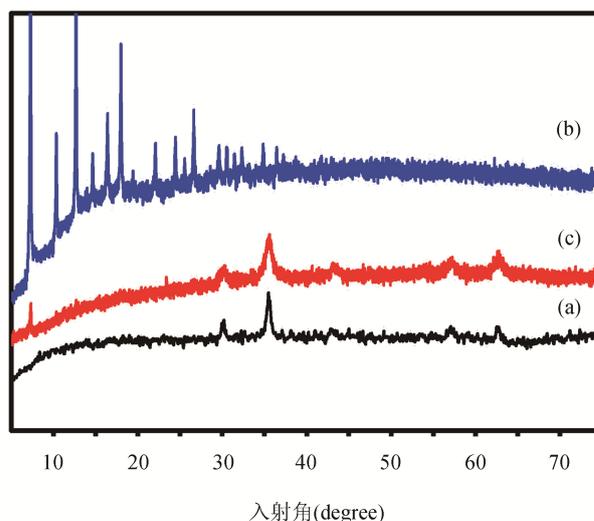


图 2 Fe₃O₄(a)、ZIF-67(b)和 Fe₃O₄@ZIF-67(c)粉末 X-射线衍射图

Fig. 2 The powder X-ray diffraction pattern of Fe₃O₄ (a), ZIF-67 (b) and Fe₃O₄@ZIF-67 (c)

为了考察复合材料的热稳定性, Fe₃O₄@ZIF-67 的热重分析结果如图 3 所示。在 200 °C 以内, 约 5% 失重来自于材料表面吸附的水; 在 200~400 °C 之间, 其 4% 失重来源于晶体结构孔道内部的一些自由客体分子的蒸发; 当温度升至 400 °C 后, 材料的结构开始坍塌。与类似 MOFs 材料和常用吸附剂相比, 该磁性复合 MOFs 材料具有更高的热稳定性。

3.2 磁分散萃取条件的优化

3.2.1 吸附剂用量的选择

在 20 mL 40 μg/mL 三种酚类化合物的标准混合溶液中, 分别加入 5、10、20、30、40 mg 的磁性微球, 进行磁分散萃取, 然后用液相色谱法测定其吸附量。由图 4a 可见, 在微球量为 5~20 mg 之间, 3 种酚

类物质的吸附量随之增大;而在 20~40 mg 之间时,吸附量基本不变。因此,本实验选择 20 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4@ZIF-67$ 进行磁分散萃取实验。

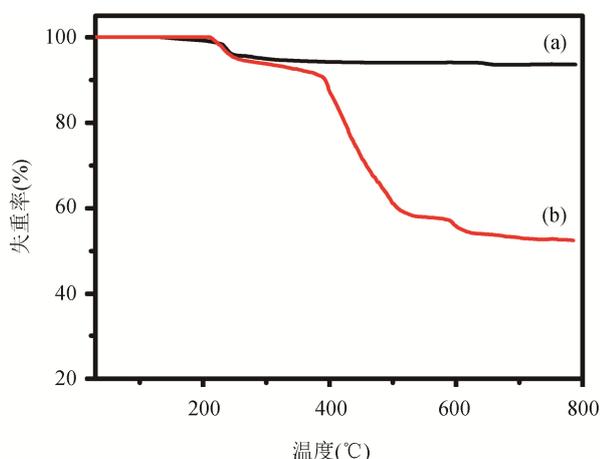


图3 Fe_3O_4 (a)和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ZIF-67$ (b)的热重分析图
Fig. 3 TGA curves of Fe_3O_4 (a) and $\text{Fe}_3\text{O}_4@ZIF-67$ (b)

3.2.2 样品溶液 pH 值的选择

样品溶液 pH 是影响萃取效率的一个重要因素。从图 4b 可以看出, pH 在 2~6 范围内, 三种化合物的吸附量逐渐增加; 当继续增加 pH 值时, 吸附量显著下降, 这是由于 3 种化合物都有酚式羟基, 容易溶解在极性溶液中, 从而降低萃取效率。而在 pH 值小于 6 时, 分析物主要以分子形式存在, 易于非极性吸附剂萃取^[15]。因此, pH 6 被选为吸附溶液 pH 值。

3.2.3 盐浓度的影响

由于盐析效应, 样品溶液中加入适量盐可以降低分析物在溶液中的溶解度, 进而提高萃取效率; 同时也会增加溶液的粘度, 扩散系数减小, 使萃取能力

降低。盐浓度对萃取效率影响的实验结果如图 4c 所示, 当样品溶液中含有 0.2 mol/L 的 NaCl 时, 获得了最大的吸附容量。

3.2.4 萃取时间的影响

磁分散萃取是以分析物在样品溶液和吸附剂中的分配平衡为基础的。因此, 萃取时间是影响萃取的一个重要因素。从图 4d 中的结果可知, 双酚 A 最适宜的萃取时间是 20 min, 苯酚是 10 min, 间苯二酚是 15 min。继续延长萃取时间, 吸附量逐渐下降, 可能是发生了解吸现象, 导致萃取效率降低。

3.3 方法学验证

3.3.1 线性方程、检出限、定量限

吸取适量的混合标准储备液用甲醇稀释成 0.05、0.1、0.5、1.0、5.0 和 10.0 mg/L 系列溶液, 得出 3 种酚类物质的标准曲线及其相关系数, 并列于表 1 中。结果表明在 0.5~10.0 mg/L 范围内线性良好, 3 种酚类物质的相关系数(r^2)均大于 0.9980, 其方法检出限(LOD, $S/N=3$)为 1.24~2.14 ng/mL, 定量限(LOQ, $S/N=10$)为 4.15~7.12 ng/mL。

3.3.2 实际样品分析和加标回收率

按照 2.3.3 中的方法, 以磁性 MOFs 微球为吸附剂, 采用磁分散萃取-高效液相色谱法, 在优化的萃取条件下对 PC 杯中双酚 A、苯酚和间苯二酚的迁移量进行了测定, 结果如图 5 所示。5a、5b 和 5c 分别为 PC 杯提取液、经磁分散萃取后的 PC 杯提取液和加标浓度为 0.1 mg/L 的提取液的色谱图, 1、2、3 分别为间苯二酚、苯酚和双酚 A。在该 PC 杯的提取液中, 3 种酚类均被检测到, 其含量为 6.55 $\mu\text{g/L}$ (双酚 A)、4.28 $\mu\text{g/L}$ (苯酚)和 2.14 $\mu\text{g/L}$ (间苯二酚), 与文献报道^[4]一致, 说明酚类确实存在迁移。

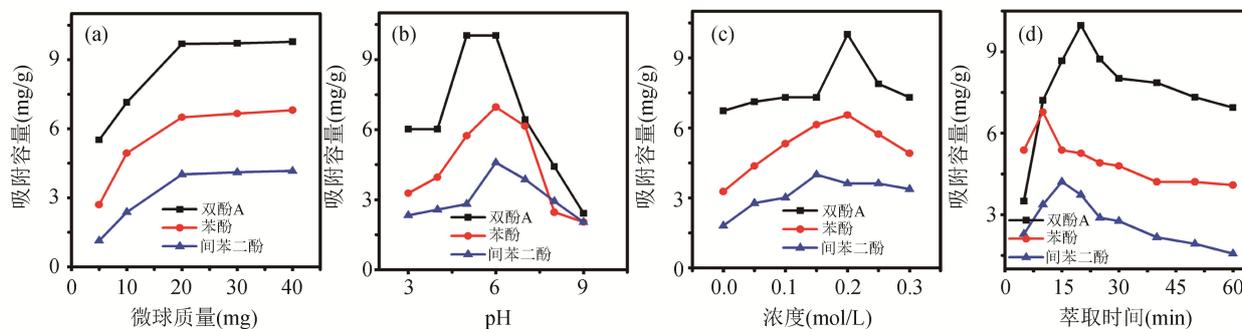


图4 吸附剂用量(a)、溶液 pH(b)、盐浓度(c)和萃取时间(d)对萃取效率的影响

Fig. 4 Effects of the amount of adsorbent (a), sample pH (b), the concentration of salt (c) and adsorption time (d) on the extraction efficiencies.

在待测样品中, 加入双酚 A、苯酚和间苯二酚标准溶液, 最终浓度分别为 0.1、0.5 和 1.0 mg/L。每个添加水平取 5 个平行样, 按照实验方法进行萃取和测定, 计算各添加水平的回收率和精密度, 其结果列于

表 2 中。3 种酚类化合物的平均回收率在 85.36%~95.47% 之间, 其相对标准偏差 (RSD) 为 1.28%~5.64%。同直接进样分析比较, 其磁分散萃取的富集因子分别为 17.69、18.30 和 17.89。

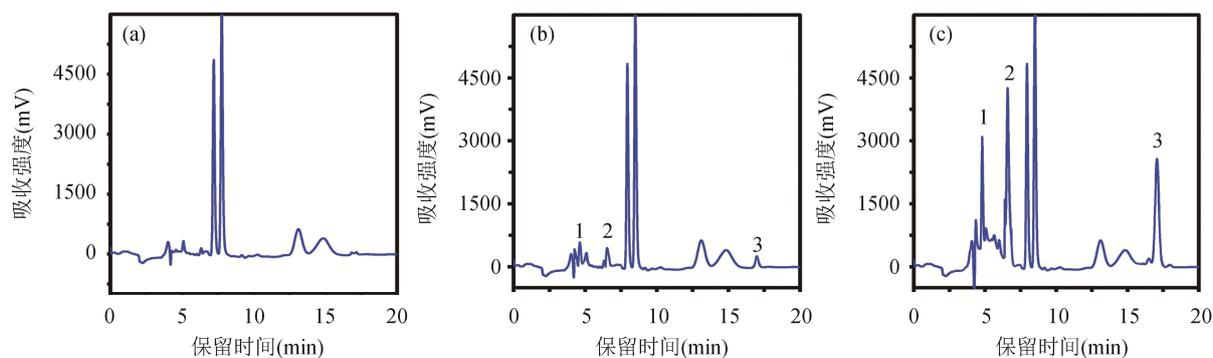


图 5 样品提取液和 3 种酚类添加在 PC 浸出液中的色谱图(1、2 和 3 分别代表间苯二酚、苯酚和双酚 A)

Fig. 5 Chromatograms of bisphenol A, phenol and resorcinol obtained from blank extracting solution of PC bottle (a), blank extracting solution after MDE (b) and extracting solution of PC sample spiked with concentration (0.1 mg/L) (c).

表 1 酚类物质的标准曲线检测结果($n=5$)

Table 1 Detection results standard curves of phenols ($n=5$)

化合物	线性回归方程	r^2	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
双酚 A	$Y=1.56 \times 10^4 C + 0.94 \times 10^3$	0.9988	2.14	7.12
苯酚	$Y=1.07 \times 10^4 C + 0.12 \times 10^3$	0.9999	1.24	4.15
间苯二酚	$Y=1.35 \times 10^4 C + 8.88 \times 10^3$	0.9984	1.69	5.64

表 2 实际样品测定与加标回收率实验结果($n=5$)

Table 2 Results of sample tests and spiked recovery of phenols ($n=5$)

分析物	检测值 ($\mu\text{g/L}$)	加标值 ($\mu\text{g/L}$)	测定值 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)	RSD (%)
双酚 A	6.55	50	42.68	85.36	3.12
		100	91.47	91.97	4.31
		500	430.25	86.05	2.87
苯酚	4.28	50	45.14	90.28	3.39
		100	89.59	89.59	1.28
		500	477.33	95.47	5.64
间苯二酚	2.14	50	43.42	86.84	2.83
		100	90.57	90.57	1.45
		500	446.61	89.32	3.92

4 结 论

该研究合成了一种新型的壳-核结构的金属有机骨架材料复合材料— $\text{Fe}_3\text{O}_4@ZIF-67$, 结果表明一锅法合成羧基化磁性微球的方法, 以及在其表面自组装多孔的MOFs的方法是可行的。以此微球为吸附剂, 建立了磁分散萃取-高效液相色谱同时测定PC 水杯中双酚A、苯酚和间苯二酚迁移量的方法, 并详细优化了萃取条件。该方法简便快速、灵敏可靠、经济有效, 适用于酚类物质的分离分析。

参考文献

- [1] Sonnenschein C, Soto AM. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists [J]. *J Steroid Biochem*, 1998, 5(1-6): 143–150.
- [2] Yang MH, Ryu JH, Jeon R, *et al.* Effects of bisphenol A on breast cancer and its risk factors [J]. *Arch Toxicol*, 2009, 83(3): 281–285.
- [3] Ma XX, Wang JT, Wu QH, *et al.* Graphene reinforced hollow fiber liquid-phase microextraction combined with HPLC for the determination of bisphenol A and 4-tert-butylphenol in bottled juice [J]. *Food Anal Methods*, 2014, 7(7): 1381–1386.
- [4] Nerin C, Philo MR, Salafranca J, *et al.* Determination of bisphenol-type contaminants from food packaging materials in aqueous foods by solid-phase microextraction-high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 963(1–2): 375–380.
- [5] Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food [EB/OL].
- [6] Wu X, Wang L, Ma W, *et al.* A simple, sensitive, rapid and specific detection method for bisphenol A based on fluorescence polarization immunoassay [J]. *Immunol Invest*, 2012, 41(1): 38–50.
- [7] Lopez-Cervantes J, Paseiro-Losada P. Determination of bisphenol A in, and its migration from, PVC stretch film used for food packaging [J]. *Food Addit Contam*, 2003, 20(6): 596–606.
- [8] Watabe Y, Kondo T, Morita M, *et al.* Determination of bisphenol A in environmental water at ultra- low level by HPLC with an effective on- line pretreatment device [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1032(1–2): 45–49.
- [9] Gallart-Ayala H, Nunez O, Lucci P. Recent advances in LC-MS analysis of food-packaging contaminants [J]. *TrAC-Trend Anal Chem*, 2013, 42: 99–124.
- [10] Shao B, Han H, Hu J, *et al.* Determination of alkylphenol and bisphenol A in beverages using liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2005, 530: 245–252.
- [11] Yu F, Pan XJ, Wang B, *et al.* Determination of phenols in surface water of dianchi lake by solid extraction -hydroxyle derivatization-GC/MS [J]. *Environ Chem*, 2010, 29(4): 744–748.
- [12] Jian H, Fang Y, Fu Y, *et al.* Studies on the extraction of phenol in wastewater [J]. *J Hazard Mater*, 2003, 101(2): 179–190.
- [13] Lv YK, Zhao CX, Li P, *et al.* Preparation of doxycycline-imprinted magnetic microspheres by inverse-emulsion suspension polymerization for magnetic dispersion extraction of tetracyclines from milk samples [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(16): 2656–2663.
- [14] Zheng J, Cheng C, Fang W, *et al.* Surfactant-free synthesis of a $\text{Fe}_3\text{O}_4@ZIF-8$ core-shell heterostructure for adsorption of methylene blue [J]. *Crystengcomm*, 2014, 16(19): 3960–3964.
- [15] Zhou Q, Gao Y, Xie G. Determination of bisphenol A, 4-n-nonylphenol, and 4-tert-octylphenol by temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction combined with high performance liquid chromatography-fluorescence detector [J]. *Talanta*, 2011, 85(3): 1598–1602.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



郭萌萌, 硕士, 主要研究方向为食品安全分析。

E-mail: gmm580231@163.com



吕运开, 教授, 主要研究方向为食品安全分析。

E-mail: lvyunkai@hbu.edu