

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定饮料中邻苯二甲酸酯

LCMSMS-021

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用测定邻苯二甲酸酯的方法。样品经处理后，用超高效液相色谱 LC-30A 快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 进行定量分析。使用内标法在 10 ~ 500 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内绘制 16 种邻苯二甲酸酯的校准曲线，线性良好，相关系数为 0.999 以上；对 20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 1.04 % 和 4.15 % 以下，系统精密度良好。

关键词：邻苯二甲酸酯 三重四极杆质谱 饮料

邻苯二甲酸酯为人工合成的化学物质，是一类常见的塑化剂，添加在塑胶中可增加弹性，广泛存在于农膜、塑料袋、玩具、橡胶管中，可致癌、致畸。2011 年 5 月 24 日，台湾媒体报道了起云剂遭受增塑剂污染的事件，导致食品安全检测市场顿时风起“云”涌，邻苯二甲酸酯的检测再度成为人们关注的焦点。本次事件的发生是由于少数起云剂生产厂家为降低成本，使用在食品中禁用的增塑剂类物质邻苯二甲酸酯代替棕榈油，从而引发了食品安全事件。

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用测定邻苯二甲酸酯的方法。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8030 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.41 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III

2.0 mm I.D. \times 150 mm L., 2.2 μm

流动相：A – 5mM 醋酸铵的水溶液；B – 甲醇

流速：0.4 mL/min

柱温：45 $^{\circ}\text{C}$

进样量：10 μL

洗脱方式：梯度洗脱，洗脱程序见表 1

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	75
6.50	Pumps	Pump B Conc.	90
7.00	Pumps	Pump B Conc.	100
8.50	Pumps	Pump B Conc.	100
8.60	Pumps	Pump B Conc.	75
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI(+)

离子喷雾电压：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 15 L/min

碰撞气：氩气

DL 温度：250 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度：450 $^{\circ}\text{C}$

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：10 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表2 MRM优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
DMEP	283.15	59.10	-29	-15.2	-24
		207.1*	-29	-10.0	-26
DMP	195.10	163.1	-22	-11.3	-20
		77.10*	-22	-34.5	-29
DEEP	311.15	73.15	-32	-13.9	-29
		221.15*	-32	-10.0	-28
DEP	223.15	177.15	-40	-10.0	-21
		149.05*	-40	-16.5	-32
DIPP	319.15	225.20	-33	-13.9	-30
		77.10*	-33	-38.4	-29
DIBP	279.20	149.05	-32	-17.8	-32
		205.15*	-32	-10.0	-25
DBP	279.20	149.05	-36	-15.2	-31
		205.15*	-36	-10.0	-25
BBP	313.20	91.15	-33	-31.9	-20
		149.10*	-33	-13.9	-32
DBEP	367.25	101.30	-23	-13.9	-22
		249.25*	-23	-10.0	-20
DPP	307.20	149.10	-35	-13.9	-33
		219.20*	-35	-10.0	-29
DCHP	331.20	149.05	-40	-31.9	-32
		167.05*	-40	-13.9	-20
DHXP	335.25	149.20	-34	-13.9	-33
		233.30*	-34	-10.0	-32
DIDP	447.40	141.25	-21	-12.6	-31
		85.20*	-21	-21.6	-20
D4-DEHP	395.35	153.20	-20	-26.8	-33
		113.30*	-20	-10.0	-25
DEHP	391.35	149.15	-40	-31.9	-32
		113.30*	-40	-10.0	-25
DNOP	391.35	149.15	-40	-19	-33
		261.25*	-40	-10	-20
DNP	419.35	71.20	-20	-22.9	-29
		127.25*	-20	-12.6	-29

注：* 表示定性离子

1.3 标准品溶液的配制

标准物质：共 16 种，分别为邻苯二甲酸二甲酯 (DMP)、邻苯二甲酸二丁酯 (DBP)、邻苯二甲酸二 (2-甲氧基) 乙酯 (DMEP)、邻苯二甲酸二戊酯 (DPP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯 (BBP)、邻苯二甲酸二 (2-丁氧基) 乙酯 (DBEP)、邻苯二甲酸二环己酯 (DCHP)、邻苯二甲酸二 (2-乙基) 己酯 (DEHP)、邻苯二甲酸二正辛酯 (DNOP)、邻苯二甲酸二壬酯 (DNP)、邻苯二甲酸二己酯 (DHXP)、邻苯二甲酸二乙酯 (DIBP)、邻苯二甲酸二乙氧基乙基酯 (DEEP)、邻苯二甲酸二异癸酯 (DIDP)、邻苯二甲酸二乙酯 (DEP)、邻苯二甲酸二苯酯 (DIPP)。

内标物质：氘代 - 邻苯二甲酸二 (2-乙基) 己酯 (D4-DEHP)。

标准工作溶液配制：用甲醇配制 10 mg/L 的混合标准中间溶液，用 50% 甲醇水溶液稀释成浓度为 10、20、50、100 和 500 µg/L 的混合标准工作液。

内标工作溶液配制：用甲醇配制 10 mg/L 的标准中间溶液，再用 50% 甲醇配制 100 µg/L 的标准工作溶液。

1.4 样品前处理方法

取 5.0 mL 饮料，加入 2.0 mL 农残级正己烷，震荡 2 min，静置后，取 1.0 mL 上清液氮吹至干，用 50% 甲醇水溶液定容至 1.0 mL，进样分析。

结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

10 μg/L 标准溶液的 MRM 色谱图如图 1-17 所示。

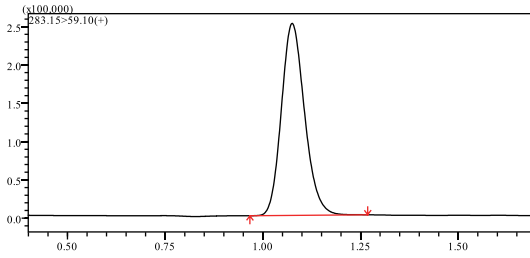


图1 DMEP 色谱图 (283.15>59.10)

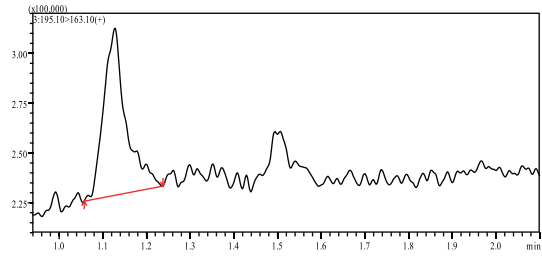


图2 DMP 色谱图 (195.10>163.10)

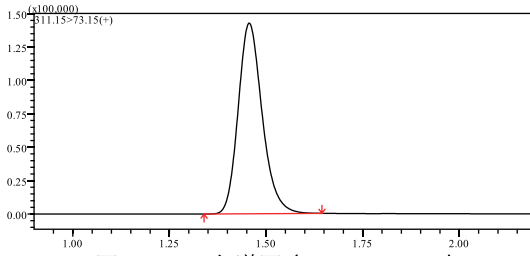


图3 DEEP 色谱图 (311.15>73.15)

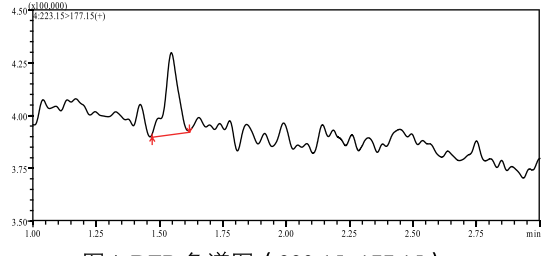


图4 DEP 色谱图 (223.15>177.15)

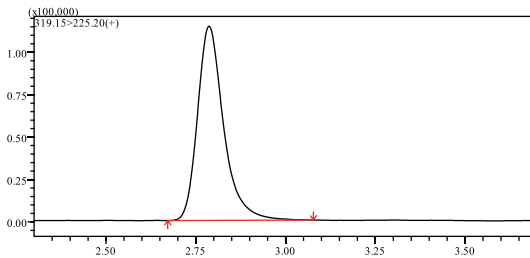


图5 DIPP 色谱图 (319.15>225.20)

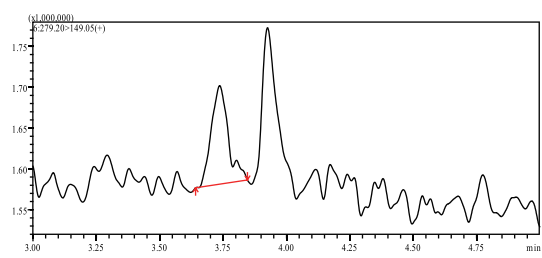


图6 DIBP 色谱图 (279.20>149.05)

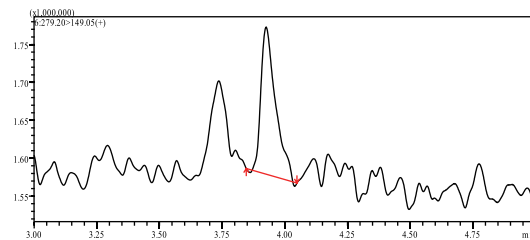


图7 DBP 色谱图 (279.20>149.05)

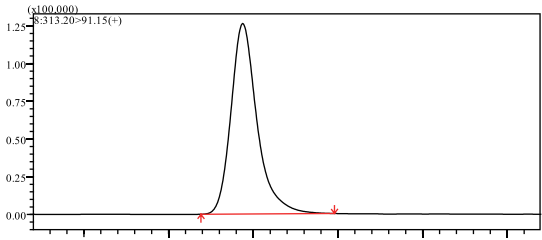


图8 BBP 色谱图 (313.20>91.15)

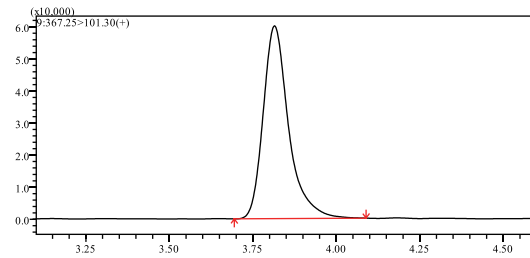


图9 DBEP 色谱图 (367.25>101.30)

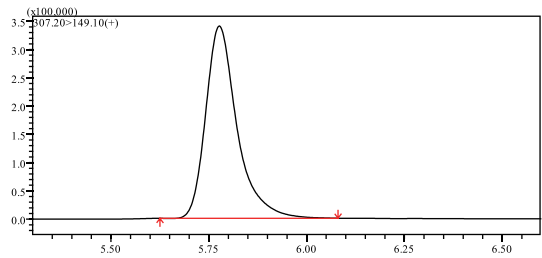


图10 DPP 色谱图 (307.20>149.10)

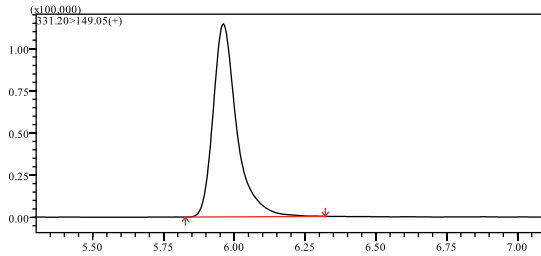


图11 DHP 色谱图 (331.20>149.05)

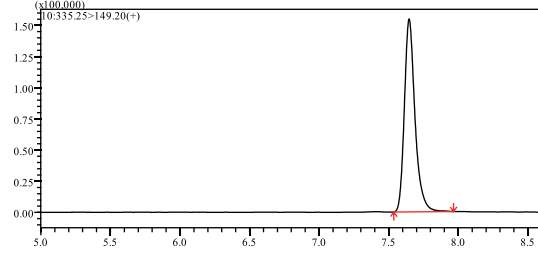


图12 DHXP 色谱图 (335.25>149.20)

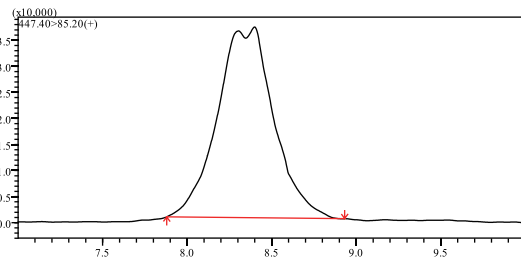


图13 DIDP 色谱图 (447.40>141.25)

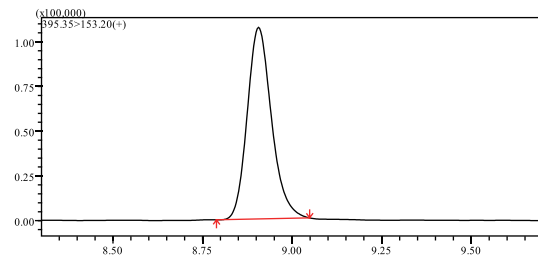


图14 D4-DEHP 色谱图 (395.35>153.20)

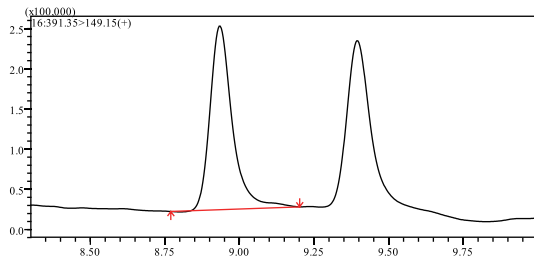


图15 DEHP 色谱图 (391.35>149.15)

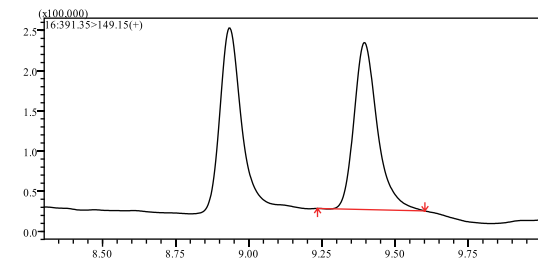


图16 DNOP 色谱图 (391.35>149.15)

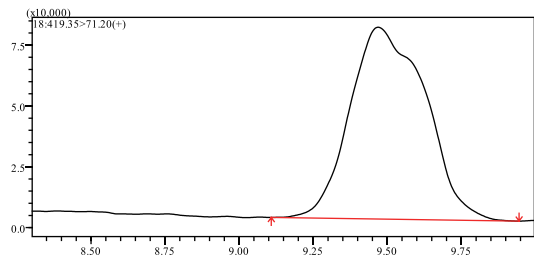


图17 DNP 色谱图 (419.35>127.25)

2.2 线性关系

将浓度为 10、20、50、100、500 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，使用内标法绘制校准曲线。所得校准曲线线性关系良好，相关信息见表 2。

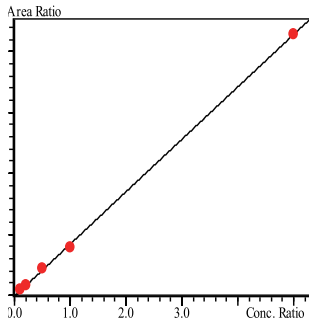


图18 DMEP的校准曲线

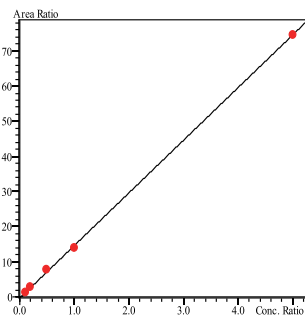


图19 DMP的校准曲线

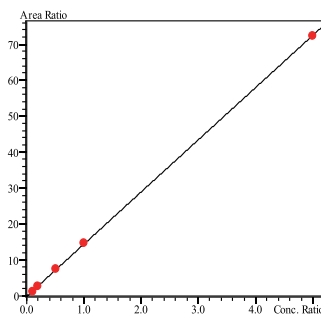


图20 DEEP的校准曲线

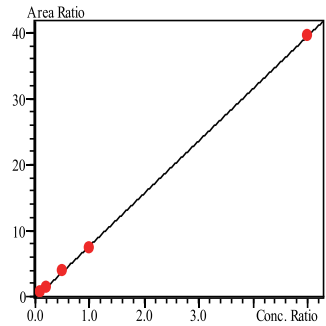


图21 DEP的校准曲线

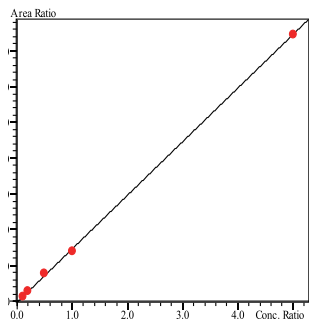


图22 DIPP的校准曲线

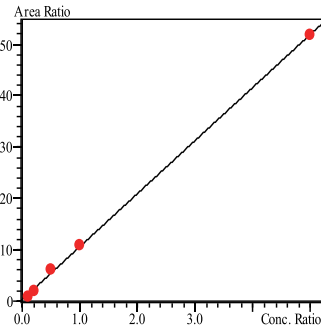


图23 DIBP的校准曲线

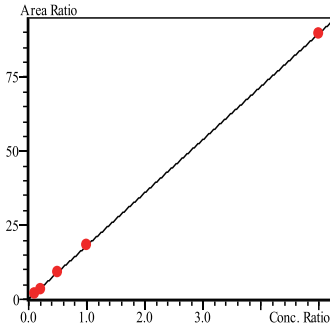


图24 DBP的校准曲线

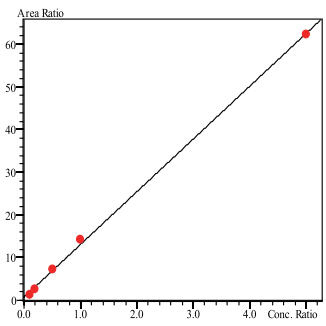


图25 BBP的校准曲线

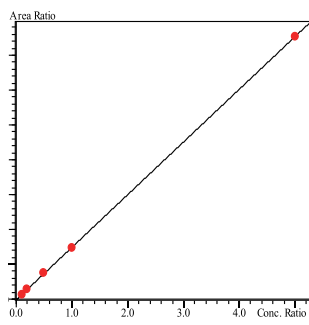


图26 DBEP的校准曲线

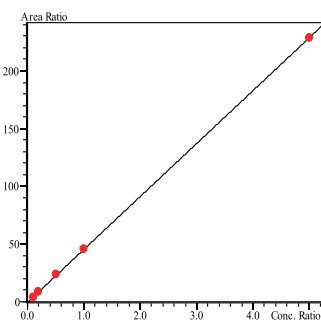


图27 DPP的校准曲线

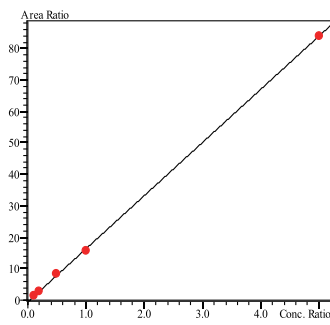


图28 DCHP的校准曲线

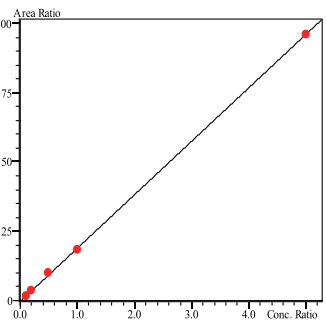


图29 DHXP的校准曲线

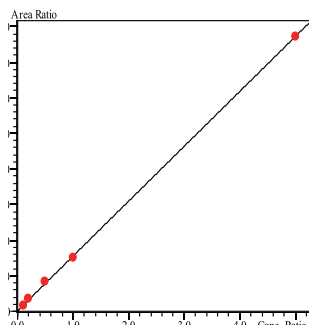


图30 DIDP的校准曲线

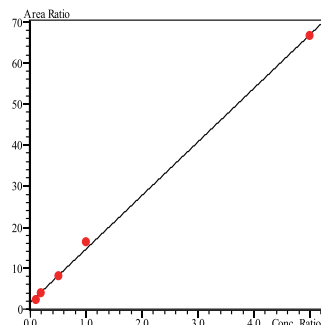


图31 DEHP的校准曲线

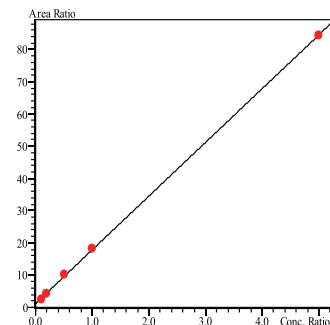


图32 DNOP的校准曲线

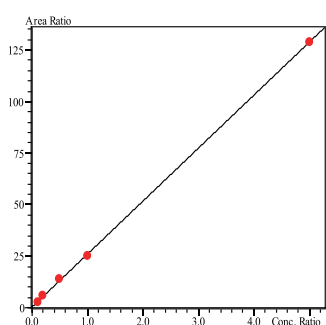


图33 DNP的校准曲线

表2 16种邻苯二甲酸酯的校准曲线与定量限信息

化合物	校准曲线	相关系数 r	定量限(μg/L)	检出限(μg/L)
DMEP	$Y = (21.5056)X + (0.507982)$	0.9999	0.51	0.17
DMP	$Y = (3.84968)X + (0.6499)$	0.9993	8.65	2.85
DEEP	$Y = (14.5116)X + (-0.0910578)$	1.0000	0.13	0.04
DEP	$Y = (7.9453)X + (-0.229857)$	0.9999	67.80	22.40
DIPP	$Y = (14.9911)X + (-0.349504)$	0.9999	0.27	0.09
DIBP	$Y = (10.3416)X + (0.280682)$	0.9997	24.30	8.10
DBP	$Y = (17.9339)X + (0.142112)$	1.0000	12.90	4.26
BBP	$Y = (12.3748)X + (0.731055)$	0.9996	0.09	0.03
DBEP	$Y = (7.56302)X + (-0.109707)$	1.0000	0.30	0.10
DPP	$Y = (45.8435)X + (-0.495981)$	1.0000	0.12	0.04
DCHP	$Y = (16.9033)X + (-0.553426)$	0.9999	0.18	0.06
DHXP	$Y = (19.2892)X + (-0.36547)$	1.0000	0.09	0.03
DIDP	$Y = (15.4162)X + (0.149031)$	0.9999	0.63	0.21
DEHP	$Y = (13.0563)X + (1.66949)$	0.9994	0.76	0.25
DNOP	$Y = (16.667)X + (1.19159)$	1.0000	0.72	0.24
DNP	$Y = (25.6942)X + (0.384239)$	1.0000	0.69	0.23

2.3 精密度实验

对 20、50、100 μg/L 的混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示，高中低 3 个浓度的标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03%~1.04% 和 0.19%~4.15% 之间，仪器精密度良好。

表3 16种邻苯二甲酸酯重复性数据(n=6)

化合物	20 μg/L		50 μg/L		100 μg/L	
	RT(RSD%)	Area(RSD%)	RT(RSD%)	Area(RSD%)	RT(RSD%)	Area(RSD%)
DMEP	0.05	2.68	0.45	0.94	0.12	0.52
DEEP	0.10	2.95	0.68	1.05	0.13	0.86
DMP	0.10	3.90	0.39	4.03	0.14	3.13
DEP	0.53	3.66	0.70	3.02	0.62	3.89
DIPP	0.09	3.28	1.04	0.50	0.10	0.19
DIBP	0.05	2.12	0.93	2.53	0.20	3.65
DBP	0.11	3.09	0.84	3.72	0.13	2.17
BBP	0.09	2.87	0.88	1.04	0.09	0.55
DBEP	0.10	1.91	0.87	1.24	0.08	0.78
DPP	0.07	1.63	0.49	1.24	0.05	1.26
DCHP	0.06	1.23	0.46	1.35	0.04	0.71
DHXP	0.05	1.63	0.31	1.52	0.03	0.76
DIDP	0.44	2.39	0.50	2.34	0.16	1.82
DEHP	0.05	3.54	0.20	3.72	0.05	2.22
DNOP	0.06	2.71	0.26	1.82	0.07	1.82
DIDP	0.06	4.15	0.26	4.11	0.07	2.37

2.4 加标回收率实验

以市售绿茶为基质，检测 DEHP。在市售绿茶中检测到 DEHP，含量为 4.0 $\mu\text{g/L}$ ，色谱图如图 34。在上述绿茶中加入 DEHP，加标浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ ，检测得 DEHP 浓度为 49.2 $\mu\text{g/L}$ ，扣除基质中的 4.0 $\mu\text{g/L}$ ，加标回收率为 90.4%。市售绿茶加标样品的色谱图见图 35。

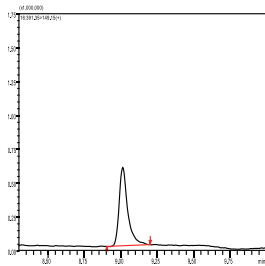


图34 市售绿茶样品色谱图(391.30>149.05)

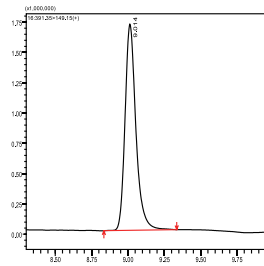


图35 市售绿茶加标样品色谱图(391.30>149.05)

2.5 实际样品结果

检测了市售 4 类饮料，测试样品的定量结果均为扣除溶剂空白后的结果，超出标曲范围的样品，稀释后进样。定量结果见表 4。4 种类型的饮料均不同程度的检出了 DEHP。

表4 测试样品的定量结果

测试样品	绿茶	运动饮料	芭乐汁	奶茶
DEHP 浓度(mg/L)	0.004	0.785	0.103	0.081

结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用测定饮料中的邻苯二甲酸酯的方法。该方法分析速度快，精密度良好，线性范围宽(10 ~ 500 $\mu\text{g/L}$)，校准曲线的相关系数在 0.999 以上。同时检测了 4 种市售饮料，均不同程度的检出 DEHP。