

Study on the Determination of Phthalate Plasticizers in Leather Products*

Chengyun Wang, Yangmei Cen, Junfeng Lin, Tangtang Xie, Naiqing Chu

Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen
Email: wangchengyun2009@126.com

Received: Dec. 6th, 2012; revised: Dec. 29th, 2012; accepted: Jan. 10th, 2013

Abstract: Phthalate plasticizers in leather products were microwave-assisted extracted at 100°C using acetonitrile as the extraction solvent, then the extracts were analyzed by ultra-high performance liquid chromatography (UPLC). Therefore, an effective method was established to determine simultaneously the contents of 22 kinds of phthalate plasticizers in leather products. The proposed method was simple, rapid and sensitive. At the condition of signal/noise (S/N) = 3, the detection limits were 2.00 mg/kg for DIDP and DINP while the detection limits were all less than 0.20 mg/kg for the other twenty kinds of phthalates. The spiked average recoveries changed from 90.80% to 100.49%. The relative standard deviation (RSD) of precision experiments was all less than 7%. The proposed method was applied successfully in the determination of phthalates in commercially available leather products.

Keywords: UPLC; Phthalate; Leather Product; Microwave-Assisted Extraction

皮革制品中邻苯二甲酸酯类增塑剂含量的检测方法研究*

王成云, 岑杨媚, 林君峰, 谢堂堂, 褚乃清

深圳出入境检验检疫局, 深圳
Email: wangchengyun2009@126.com

收稿日期: 2012年12月6日; 修回日期: 2012年12月29日; 录用日期: 2013年1月10日

摘要: 以乙腈为萃取溶剂, 在 100°C 下微波萃取皮革制品中的邻苯二甲酸酯类增塑剂, 萃取产物经处理后进行超高效液相色谱分析, 从而建立了一种同时测定皮革制品中 22 种邻苯二甲酸酯类增塑剂的高效液相色谱方法。该方法简便快速, 灵敏度高, 在信噪比(S/N) = 3 的条件下, DIDP、DINP 的检出限均为 2.00 mg/kg, 其余 20 种邻苯二甲酸酯的检出限均小于 0.20 mg/kg。该方法的加标平均回收率为 90.80%~100.49%, 精密度实验相对标准偏差(RSD)均小于 7%。采用该方法对市售皮革制品进行测定, 获得了满意的结果。

关键词: 超高效液相色谱; 邻苯二甲酸酯; 皮革制品; 微波萃取

1. 引言

近年来, 邻苯二甲酸酯类化合物不断被发现用于皮革制品用整理剂中。早在 1982 年就发现部分邻苯二甲酸酯具有致癌性, 进一步的研究表明, 部分邻苯二甲酸酯具有雌性激素效应, 可引起生殖系统病变^[1]。

为保护人体健康和环境安全, 各国纷纷立法限制使用邻苯二甲酸酯^[2]。欧洲化学品管理署将邻苯二甲酸二(乙基己基)酯(DEHP)、邻苯二甲酸丁苄酯(BBP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)和邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)列入需授权物质清单^[3,4], 并将邻苯二甲酸二(2-甲氧基乙基)酯(DMOEP)列入第六批高关注物质清单。REACH 法规规定, 在欧盟销售的商品必须符合 REACH 法规关于高关注物质的规定, 否则产品将被

*基金项目: 皮革制品中邻苯二甲酸酯的测定方法, 认监委制标项目, 2011B108。

要求召回,甚至被赶出欧盟市场。我国是世界上皮革制品生产大国和销售大国,产品大量出口欧盟^[5]。REACH 法规的实施,对我国皮革制品出口欧盟产生巨大的影响^[6]。目前已有皮革中邻苯二甲酸酯的测定标准^[7],但该标准只涉及 DBP、BBP、DEHP、邻苯二甲酸二异壬酯(DINP)、邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)、邻苯二甲酸二异癸酯(DIDP),未给出 DIBP 和 DMOEP 的测定方法。也有文献报道了皮革制品中 DIBP 的测定^[8],但目前文献均未给出同时测定上述所有高关注物质的方法。为了应对 REACH 法规的要求,建立皮革制品中包含上述高关注物质在内的多种邻苯二甲酸酯的同时测定方法,具有极其重要的意义。微波辅助萃取技术是一种快速高效的萃取技术^[9,10],而超高效液相色谱分离效果好^[11],本文采用微波辅助萃取技术萃取皮革制品中的邻苯二甲酸酯,萃取物经处理后进行超高效液相色谱分析,从而建立了一种同时测定皮革制品中 22 种邻苯二甲酸酯的 HPLC 方法。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司), Heidolph 4003 旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司); MARS 5 型微波萃取仪(美国 CEM 公司); 氮吹仪(北京康林科技有限责任公司); Retch SM2000 织物研磨仪(德国 Retch 公司)。固相萃取柱(中性氧化铝, 500 mg/3mL)由 Agilent 公司提供。0.45 μm 滤膜由德国 Membrana 公司提供。

标准品: 邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、DMOEP、邻苯二甲酸二(2-乙氧基乙基)酯(DEOEP)、邻苯二甲酸二丙酯(DPRP)、邻苯二甲酸二烯丙酯(DALP)、BBP、邻苯二甲酸二异丙酯(DIPP)、DIBP、邻苯二甲酸二苯酯(DPP)、邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基)酯(DBOEP)、DBP、邻苯二甲酸二戊酯(DAP)、邻苯二甲酸二己酯(DHXP)、邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(DMPP)、邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)、邻苯二甲酸二庚酯(DHP)、DNOP、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)、DNP、邻苯二甲酸二异壬酯(DINP)、DIDP 均由百灵威公司提供,其纯度均大于 99.0%。

色谱纯乙腈由 Merck 公司提供。分析纯乙腈、三

氯甲烷、正己烷、丙酮、甲醇、二氯甲烷、环己烷、乙酸乙酯、叔丁基甲醚、异丙醇、乙醇、石油醚均由广州化学试剂厂提供。试验用水为经 Millipore 系统处理的去离子水。

2.2. 标准溶液的配制

准确称取适量标准品,用乙腈溶解并定容,配制成合适浓度的标准溶液储备液。各取合适体积的标准溶液储备液,配制混合标准溶液储备液,并用乙腈逐级稀释至所需浓度。

2.3. 样品前处理

取有代表性的样品,剪碎后用织物研磨仪磨成粉末。称取 1.0 g 样品,置于微波萃取管中,加入 15 mL 萃取溶剂,进行微波萃取,萃取温度设定为比溶剂沸点高约 20 $^{\circ}\text{C}$ 。收集萃取液,残渣用 15 mL 溶剂进行第二次萃取,合并萃取液于鸡心瓶中。将萃取液旋转蒸发至近干后用氮气缓慢吹干,用 10 mL 甲醇溶解残留物,转移至已用 5 mL 活化后的固相萃取柱中进行净化处理,用 10 mL 甲醇分多次淋洗。收集的洗脱液旋转蒸发至近干,再用氮气缓慢吹干。用 2 mL 甲醇溶解残留物,溶液经 0.45 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 分析。必要时,进行适当稀释后再进行测定。

2.4. 色谱条件

岛津 Shim-Pack XR-ODS 色谱柱(75 mm \times 3.0 mm ID, 2.2 μm); 流速: 0.5 mL/min; 进样量: 1.0 μL ; 检测波长: 225 nm; 柱温: 60 $^{\circ}\text{C}$; 洗脱梯度: 0 min 时, 60%水/40%乙腈, 7 min 时, 53%水/47%乙腈, 19 min 时, 35%水/65%乙腈, 25 min 时, 29%水/71%乙腈, 35 min 时, 14%水/86%乙腈, 40 min 时, 9%水/91%乙腈, 48 min 时, 5%水/95%乙腈。

3. 结果与讨论

3.1. 萃取条件的确定

微波萃取效率主要取决于所选用的萃取溶剂,较大的萃取压力、较长的萃取时间和较高的萃取温度也均在一定程度上有利于提高萃取效率。

改变微波萃取时间,观察萃取效率的变化,结果发现,随萃取时间的增加,萃取量也逐渐增加,且在

30 min 时达到最大值；萃取时间继续增加时，萃取量基本不变。本文选择的萃取时间为 30 min。

微波萃取管为聚四氟乙烯制成，可耐 260℃ 高温，最大承压达 50 大气压。一般情况下，微波萃取温度要求比溶剂沸点高 10℃~20℃。为了尽可能地提高萃取效率，本文将萃取温度设定为比溶剂沸点高约 20℃。微波萃取管中液体体积一般为总体积的三分之一，对于每一种萃取溶剂，其萃取温度是固定的，因此萃取管内压力也基本固定。

不同溶剂的微波吸收特性及与基体之间的相互影响各不相同，且对目标化合物的溶解能力各异，导致不同溶剂的萃取效率相差很大。本文选择乙腈等 17 种常见溶剂为萃取溶剂，对一种市售皮革制品中的邻苯二甲酸酯进行微波萃取，表 1 给出了不同溶剂的萃取效果。叔丁基甲醚、异丙醇、乙腈、三氯甲烷/甲醇(2:1)这 4 种溶剂的萃取效果相近，但异丙醇的沸点较高，乙腈毒性最小。综合考虑，最终选择乙腈为微波萃取溶剂。

Table 1. The extraction effect of various solvents
表 1. 不同溶剂的萃取效果

萃取溶剂	萃取量/mg/kg			
	DIBP	DBP	DEHP	DINP
乙腈	18.2	3.2	9.6	672.7
甲醇	15.3	2.7	8.1	568.2
叔丁基甲醚	17.8	3.2	9.5	665.0
二氯甲烷	12.4	2.2	6.6	465.8
乙醇	13.8	2.4	7.3	513.6
三氯甲烷/甲醇(2:1)	18.1	3.2	9.6	670.3
乙酸乙酯/二氯甲烷(1:1)	9.9	1.8	5.3	369.9
丙酮	12.6	2.2	6.7	461.9
异丙醇	17.9	3.2	9.5	669.4
乙酸乙酯/环己烷(1:1)	11.7	2.1	6.2	444.9
三氯甲烷	15.3	2.7	8.1	570.1
正己烷/丙酮(1:1)	13.9	2.5	7.4	519.0
石油醚	13.6	2.4	7.2	506.4
丙酮/石油醚(1:3)	11.7	2.1	6.2	437.0
正己烷/异丙醇(1:1)	16.4	2.9	8.7	620.4
乙酸乙酯	9.0	1.6	4.8	336.0
丙酮/环己烷(1:1)	9.8	1.7	5.2	364.1

3.2. 净化条件的确定

皮革基体十分复杂，为保护色谱柱，必须先进行净化处理。分别采用硅藻土柱、Sep-Pak 柱、HLB 柱、中性氧化铝柱、LC-C₁₈ 柱对皮革制品萃取液进行净化处理，比较净化前后的色谱图，结果发现，中性氧化铝柱的净化效果最好，经其净化后，色谱图中杂质峰最少。为测定各萃取柱的回收率，用混标溶液(DIDP、DINP 浓度约为 100 mg/L, 其余 20 种浓度约为 10 mg/L) 分别过柱，结果发现，中性氧化铝柱的回收率最高，硅藻土柱、Sep-Pak 柱、HLB 柱、中性氧化铝柱、LC-C₁₈ 柱的回收率分别为 53.14%~74.12%、30.58%~45.09%、64.15%~84.32%、92.03%~103.85%、39.21%~55.18%。因此本文选择中性氧化铝柱进行净化。

每次用 3 mL 甲醇洗脱，分别收集洗脱液，进行 HPLC 分析，结果发现，前三次洗脱液中均可检出邻苯二甲酸酯，而第四次洗脱液中则未检出。因此，本文采用 10 mL 甲醇分多次洗脱，以最大程度地收集目标化合物，并尽可能除去基体的干扰。

3.3. 色谱分离条件的确定

不同文献采用的检测波长各不相同^[12-15]。为选择合适的检测波长，测定各标准溶液储备液的紫外-可见吸收光谱，结果发现，DEOEP、DMOEP 等几个组分在 200 nm 附近有吸收峰，但大部分目标化合物均无明显吸收峰。各组分在 190~300 nm 范围内均有较强的吸收。综合考虑，检测波长确定为 225 nm。

采用 HPLC 法同时测定多种邻苯二甲酸酯时，常使用乙腈/水、甲醇/水作为流动相进行梯度洗脱。本文分别采用乙腈/水、水/水作为流动相，进行色谱分离，结果发现，当使用乙腈/水作为流动相时，色谱分离效果很好，除 DINP 和 DIDP 均为一组五指峰外，其余各色谱峰之间分离完全，峰形尖锐且对称性好；而使用甲醇/水作为流动相时，色谱分离效果明显较差，部分色谱峰有拖尾现象，峰形对称性较差。因此，本标准选择乙腈/水作为流动相。为获得最佳色谱分离效果，采用不同的洗脱梯度进行洗脱，结果发现，当采用 1.4 节的洗脱梯度时，色谱分离效果最好，除 DINP 和 DIDP 各为一组五指峰外，其余各色谱峰均峰形尖锐，对称性好。图 1 是 22 种邻苯二甲酸酯混标的 HPLC 图。从图 1 中可以看出，DIDP 和 DINP 各

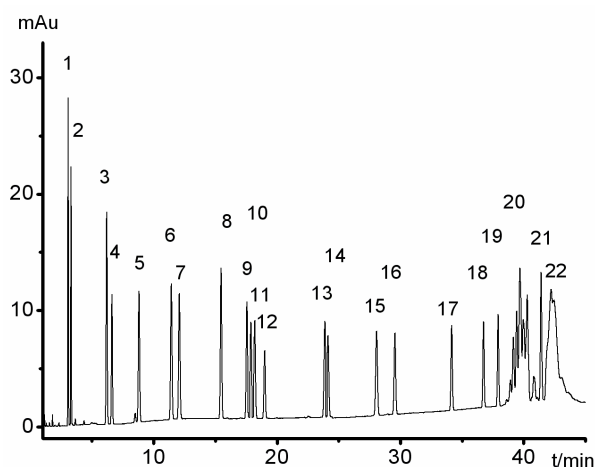


Figure 1. HPLC chromatograph of mixed standards (peak number the same as those in Table 2)

图 1. 混标的 HPLC 图(峰号同表 2)

为一组五指峰, 其余 20 种邻苯二甲酸酯的色谱峰之

间分离完全, 各色谱峰均对称性好, 峰形尖锐, 基线噪声低。

3.4. 方法的线性关系和检出限

对不同浓度的混合标准溶液进行测定, 结果发现, 在一定质量浓度 c 范围内, 其峰面积 A (单位: mAu) 与质量浓度 c (单位: mg/L) 之间存在良好的线性关系, 表 2 给出了 22 种邻苯二甲酸酯的线性关系。检出限按空白样品的 3 倍信噪比 ($S/N = 3$) 进行计算, 也列于表 2 中。DINP 和 DIDP 的检出限均为 2.00 mg/kg, 其余 20 种邻苯二甲酸酯的检出限均小于 0.2 mg/kg。

3.5. 方法的精密度和回收率

对一个市售阳性皮革样品进行 9 次平行性试验, 测定方法的精密度, 实验结果见表 3。表 3 的数据表

Table 2. The linear relationship and detection limits
表 2. 线性关系和检出限

No.	组分	t/min	线性范围/mg/L	线性方程	r	检出限/mg/kg
1#	DMP	3.037	0.16~40.60	$A = 2949.5 c - 834.32$	0.9992	0.10
2#	DMOEP	3.278	0.19~48.60	$A = 2011.8 c - 543.38$	0.9995	0.10
3#	DEP	6.172	0.21~53.26	$A = 2593.6 c - 797.23$	0.9992	0.10
4#	DEOEP	6.571	0.19~46.80	$A = 1804.1 c - 399.54$	0.9994	0.10
5#	DALP	8.785	0.18~45.56	$A = 2351.5 c - 634.22$	0.9993	0.10
6#	DIPP	11.394	0.21~52.00	$A = 3092.8 c + 571.91$	0.9999	0.10
7#	DPRP	12.041	0.19~48.00	$A = 4198.2 c + 789.96$	0.9996	0.10
8#	DPP	15.441	0.19~48.00	$A = 2893.5 c - 795.89$	0.9993	0.10
9#	BBP	17.562	0.19~46.50	$A = 2262.2 c - 591.42$	0.9990	0.10
10#	DIBP	17.922	0.43~42.90	$A = 2169.8 c - 993.79$	0.9990	0.20
11#	DBP	18.169	0.43~43.20	$A = 2165.4 c - 971.64$	0.9989	0.20
12#	DBOEP	18.986	0.49~49.00	$A = 1216.8 c - 444.46$	0.9988	0.20
13#	DAP	23.925	0.52~51.60	$A = 1998.7 c - 1019.5$	0.9985	0.20
14#	DCHP	24.203	0.46~45.90	$A = 1882.4 c - 893.71$	0.9990	0.20
15#	DMPP	28.114	0.50~50.40	$A = 1861.9 c - 856.66$	0.9996	0.20
16#	DHXP	29.706	0.46~45.50	$A = 1822.1 c - 614.08$	0.9997	0.20
17#	DHP	34.286	0.45~44.70	$A = 1674.0 c - 672.65$	0.9995	0.20
18#	DEHP	36.884	0.39~39.20	$A = 1675.4 c + 3112.8$	0.9994	0.20
19#	DNOP	38.117	0.45~45.46	$A = 1687.7 c - 184.52$	0.9988	0.20
20#	DINP	38.600~41.200	4.70~470.0	$A = 1472.4 c - 6270.6$	0.9987	2.00
21#	DNP	41.643	0.50~50.00	$A = 2072.9 c - 1155.2$	0.9990	0.20
22#	DIDP	41.800~43.400	4.36~43.60	$A = 1233.1 c - 3683.0$	0.9981	2.00

Table 3. The precision experiment
表 3. 精密度实验

组分	测定值/mg/kg										平均值	RSD/%
DIBP	18.5	17.8	17.9	18.4	18.3	17.7	18.2	18.6	18.1	18.2	18.2	1.74
DBP	3.4	2.8	2.9	3.3	3.1	3.2	3.0	3.4	3.3	3.2	3.2	6.93
DEHP	9.1	9.9	9.3	8.9	10.1	9.8	10.0	9.5	9.7	9.6	9.6	4.35
DINP	689.5	645.7	641.6	695.3	659.8	678.4	698.5	664.3	681.2	672.7	672.7	3.11

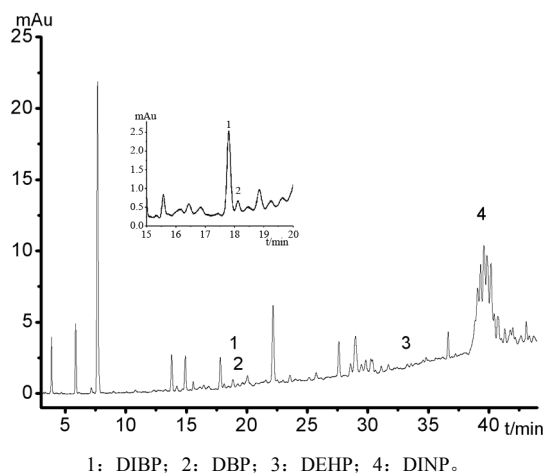


Figure 2. HPLC chromatograph of a real sample
图 2. 一个实际样品的 HPLC 图

明, 该方法的精密度高, 对于检出的各组分, 其相对标准偏差(RSD)均小于 7%。

以不含目标化合物的皮革制品作为空白样品, 分别添加高、中、低三个浓度水平的混合标准溶液, 每个浓度水平进行 9 次平行样实验, 测定方法的添加回收率, 结果表明, 方法的平均回收率为 90.80%~101.49%。

3.6. 实际样品测试

采用本文建立的方法对 47 个市售皮革制品(包括 18 个皮革样品和 29 个皮鞋样品)中邻苯二甲酸酯类增塑剂的含量进行测定, 结果在一个暗红色皮革制品和一个墨绿色皮革制品中均检出 DIBP、DBP、DEHP 和 DINP, 墨绿色皮革制品中含量分别为 51.3、5.0、5.2、629.1 mg/kg; 暗红色皮革制品中含量分别为 18.2、3.2、9.6、672.7 mg/kg; 其余 45 个样品中均未检出邻苯二甲酸酯类增塑剂。图 2 是暗红色皮革制品萃取液的 HPLC 图。

4. 结论

采用微波辅助萃取技术提取皮革制品中邻苯二甲酸酯类增塑剂, 提取液经中性氧化铝固相萃取柱净化后进行超高效液相色谱分析, 从而建立了一种同时测定皮革制品中多种邻苯二甲酸酯的 HPLC 方法, 该方法的检测范围涵盖了 REACH 法规所涉及的全部邻

苯二甲酸酯类增塑剂。该方法检出限低, 简便快速, 可完全满足皮革制品中邻苯二甲酸酯类增塑剂检测的需要。该方法也可以用于涂布纸、纺织品等产品中邻苯二甲酸酯类增塑剂的测定。

参考文献 (References)

- [1] 王小逸, 林兴桃, 客慧明. 邻苯二甲酸酯类环境污染物健康研究新进展[J]. 环境与健康, 2007, 24(10): 820-821.
- [2] Directive 2005/84/EC of the European Parliament and of the Council of 14 December 2005 Amending for the 22nd time Council Directive 76/769/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the member states relating to restrictions on the marketing and use of certain dangerous substances and preparations (phthalates in toys and childcare articles). Official Journal of the European Union, 2005, L344: 40-43.
- [3] Corrigendum to Commission Regulation (EU) No. 143/2011 of 17 February 2011 amending Annex XIV to Regulation (EC) No. 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). Official Journal of the European Union, 2011, L49: 52-53.
- [4] Commission Regulation (EU) No. 125/2012 of 14 February 2012 amending Annex XIV to Regulation (EC) No. 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals (REACH). Official Journal of the European Union, 2012, L41: 1-4.
- [5] 田美. 中国皮革工业现状分析及发展对策[J]. 中国皮革, 2008, 37(1): 42-44.
- [6] A. G. Puntener. 皮革工业面临的 REACH 条款与挑战[J]. 中国皮革, 2010, 39(1): 23-25.
- [7] GB/T 22931-2008. 皮革和毛皮化学试验增塑剂的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [8] 李天宝, 刘炜, 王春利等. 皮革制品中邻苯二甲酸二异丁酯含量的检测方法研究[J]. 西部皮革, 2010, 32(23): 32-34.
- [9] J. M. Cano, M. L. Marin, A. Sanchez, et al. Determination of adipate plasticizers in poly(vinyl chloride) by microwave-assisted extraction. Journal of Chromatography A, 2002, 963: 401-409.
- [10] 王成云, 李丽霞, 谢堂堂等. 微波辅助萃取-气相色谱-串联质谱法同时测定纺织品中 6 种有机磷阻燃剂[J]. 色谱, 2011, 29(8): 731-736.
- [11] 王成云, 龚叶青, 谢堂堂等. 柱前衍生/高效液相色谱法测定皮革中甲醛含量[J]. 皮革科学与工程, 2011, 21(6): 47-52.
- [12] SN/T 2689-2010. 旧机电产品中邻苯二甲酸酯的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [13] SN/T 2591.3-2010. 电子电气产品中邻苯二甲酸酯类物质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [14] K. Mitani, S. Narimatsu, F. Izushi, et al. Simple and rapid analysis of endocrine disruptors in liquid medicines and intravenous injection solutions by automated in-tube solid-phase microextraction/high performance liquid chromatography. Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003, 32(3): 469-478.
- [15] 张会军, 张敬轩, 李挥等. 凝胶渗透色谱-高效液相色谱法对辣椒酱中 14 种邻苯二甲酸酯的同时检测[J]. 食品科学, 2011, 32(4): 152-154.