

高效液相色谱法快速测定白酒中邻苯二甲酸二丁酯

尚倩卉, 孟一诺, 姜欣, 黄雯雯, 王雅琳, 乔欣羽, 谷晓思, 祁文娜, 王轶鹏, 孙晓萌, 孟凡达*

山东第一医科大学(山东省医学科学院)临床与基础医学院(基础医学研究所), 山东 济南

收稿日期: 2023年9月15日; 录用日期: 2023年10月27日; 发布日期: 2023年11月3日

摘要

目的: 建立一种利用高效液相色谱法快速测定白酒中邻苯二甲酸二丁酯的检测方法。方法: 样品过0.22 μm 微孔滤膜后, 氮吹仪挥干后, 使用甲醇定容, 使用高效液相色谱检测。检测波长225 nm, 外标法定量。结果: 本方法前处理简便易操作, 邻苯二甲酸二丁酯在0.5~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好, 相关系数均大于0.9999, 方法的检出限为0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 加标回收率分别为93.5%~105.9%, 相对标准偏差小于10%。结论: 该方法操作简便、准确度高、重现性好, 适合白酒中邻苯二甲酸二丁酯的快速测定。

关键词

高效液相色谱, 食品添加剂, 邻苯二甲酸二丁酯, 快速检测

Rapid Determination of Dibutyl Phthalate in White Liquor by High-Performance Liquid Chromatography

Qianhui Shang, Yinuo Meng, Xin Jiang, Wenwen Huang, Yalin Wang, Xinyu Qiao, Xiaosi Gu, Wenna Qi, Yipeng Wang, Xiaomeng Sun, Fanda Meng*

College of Clinical and Basic Medicine & Institute of Basic Medicine, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan Shandong

Received: Sep. 15th, 2023; accepted: Oct. 27th, 2023; published: Nov. 3rd, 2023

Abstract

Objective: To develop a rapid method for determining dibutyl phthalate (DBP) in white liquor using high-performance liquid chromatography (HPLC).

*通讯作者。

文章引用: 尚倩卉, 孟一诺, 姜欣, 黄雯雯, 王雅琳, 乔欣羽, 谷晓思, 祁文娜, 王轶鹏, 孙晓萌, 孟凡达. 高效液相色谱法快速测定白酒中邻苯二甲酸二丁酯[J]. 化学工程与技术, 2023, 13(6): 396-403. DOI: 10.12677/hjct.2023.136045

ing high-performance liquid chromatography (HPLC). Methods: The samples were filtered through the 0.22 μm microporous membrane and dried using a nitrogen blower. Following methanol adjustment, the HPLC technique was employed for analysis at 225 nm. The external standard method was used for quantitative analysis. **Results:** The pretreatment method is simple and easy to operate. The method exhibited good linearity in the range of 0.5 to 20 $\mu\text{g/mL}$ for DBP analysis, with correlation coefficients above 0.999. The limit of detection was found to be 0.05 $\mu\text{g/mL}$, and the average recoveries ranged from 93.5% to 105.9%, with a relative standard deviation of less than 10%. **Conclusion:** The method is accurate, reproducible, simple and easy to operate, which could be applied to the determination of dibutyl phthalate in white liquor.

Keywords

HPLC, Food Additive, Dibutyl Phthalate, Rapid Detection

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

白酒作为一种饮品,已经成为了人们日常生活中不可缺少的佳酿。白酒行业在我国食品行业中占据着重要的地位,白酒质量安全问题关系到人们的健康和白酒行业的健康发展。

目前,塑料制品,尤其是塑料容器,由于成本低及使用的便捷性,被广泛应用于白酒的运输和储存过程。为了改善塑料容器的性能,降低生产成本,塑料制品中往往添加塑化剂来提高塑料的可塑性和强度。其中,邻苯二甲酸二丁酯(DBP, dibutyl phthalate)作为一种优异的塑化剂被广泛的用于塑料制品的加工过程中。另外,由于塑化剂在食品加工中可以起到乳化稳定剂的效果、且成本低,最近几年大量不法商贩使用塑化剂代替乳化稳定剂在食品加工中使用。

然而,白酒的主要成分之一是乙醇,由于乙醇的脂溶性,因而会导致邻苯二甲酸酯类增塑剂容易在白酒的储存过程中出现迁移。这样的塑化剂迁移现象不仅可能出现在生产加工环节,也发生于白酒的储藏过程中。

甚至一些商家为了增加白酒的稠度、口感或香气等方面的特征,以掩盖白酒质量上的缺陷,或者为了降低生产成本,直接将邻苯二甲酸二丁酯勾兑到白酒中。

DBP被认为是一种潜在的内分泌干扰物,可能干扰人体正常的内分泌系统功能[1] [2] [3] [4] [5]。长期饮用含有DBP的白酒可能导致内分泌紊乱、生殖系统功能损伤、增加患某些癌症的风险等。此外,DBP还可能对肝脏、肾脏和呼吸系统产生毒性影响。大量摄入DBP可能导致中毒症状,如恶心、呕吐、腹痛、头痛、眼睛和喉咙不适等。

随着DBP的大量使用,对社会造成巨大危害,因此我国国家市场监督管理总局在2019年发布的《市场监管总局关于食品中“塑化剂”污染风险防控的指导意见》中就强调了要开展塑化剂项目检验,其中明确规定了企业生产经营的白酒和其他蒸馏酒中DBP的含量不高于1 mg/kg,严厉查处生产经营过程中非法添加邻苯二甲酸酯类物质的违法违规行为。

目前常见的DBP的检测方法主要包括分光光度法、荧光光度法、气相色谱法(GC)、液相色谱法(HPLC)、气质联用法(GC-MS)、液质联用法(HPLC-MS)等[4] [6]-[11]。但这些方法对分析物质的限制过大,操作工程繁琐,灵敏度差,实验经费消耗高等特点,难以实现高效快速便捷的检测,无法推广到基层检测机构。

本研究建立了一种利用高效液相色谱法快速测定白酒中邻苯二甲酸二丁酯的方法, 样本经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 氮吹仪挥干后, 使用甲醇定容, 使用高效液相色谱检测, 利用外标法定量。该方法前处理简便、准确度高, 适合白酒中邻苯二甲酸二丁酯的快速测定, 为食品监管部门后期做好白酒质量监管工作提供了一种简便有效的方式。

2. 材料与方法

2.1. 仪器与试剂

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(配 DAD 检测器); TU-1901 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); 邻苯二甲酸二丁酯标准品(1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)采购于坛墨质检标准物质中心; Eclipse XDB-C18 4.6 \times 150 mm, 5 μm (安捷伦科技有限公司)。

甲醇(色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司); 0.22 μm 有机滤膜(天津津滕有限公司); 实验室用水为超纯水。

不同品牌及散装酒均为市售。

2.2. 试验方法

2.2.1. 溶液配制

流动相配制: 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为水, 通过调整配比确定流动相。

标准溶液的配制: 将 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 邻苯二甲酸二丁酯标准品使用甲醇梯度稀释, 配制成含有 0.5、1.0、2.0、5.0、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 邻苯二甲酸二丁酯的系列标准工作液。

2.2.2. 样品前处理

将白酒样品过 0.22 μm 微孔滤膜后, 准确量取 1.0 mL 置于 2.5 mL 的离心管中, 氮吹仪挥干后, 使用 100 μL 甲醇复溶, 将溶液充分振荡均匀后, 直接供高效液相色谱测定。

2.2.3. 液相色谱条件

色谱柱: Eclipse XDB-C18 4.6 \times 150 mm, 5 μm ; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 1.0 mL/min; 流动相: 甲醇:水 = 75:25; 检测波长: 225 nm; 进样量: 10 μL ; 以色谱峰的保留时间定性, 采用外标法峰面积定量。

3. 结果与分析

3.1. 检测波长的选择

使用紫外可见分光光度计对 DBP 进行紫外可见区域的吸收光谱进行扫描, 如图 1 所示。DBP 的吸收光谱显示, DBP 最大吸收峰为 206、225 和 275 nm。由于在 206 nm 处, 很多小分子物质均能产生吸收, 因而会出现大量吸收峰的干扰, 因此, 206 nm 不作为定量检测优选波长; 同时, 由于在 275 nm 处, 吸收峰强度明显降低, 因此, 275 nm 也不作为定量检测优选波长。

综合考虑各种因素, 本方法选择 225 nm, 作为 DBP 检测的优选波长。

3.2. 流动相的优化

由于甲醇的毒性相对乙腈等有机溶剂更低, 且通过前期实验表明, 使用甲醇的水溶液作为流动相即可以对目标物质进行有效分离, 因此, 本实验优选甲醇的水溶液作为流动相。

分别调整甲醇:水的比例作为流动相, 在流速为 1.0 mL/min 时, 分别选择比例为 95:5、85:15、75:25、65:35 作为流动相, 测试 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DBP 标准溶液, 如图 2 所示。

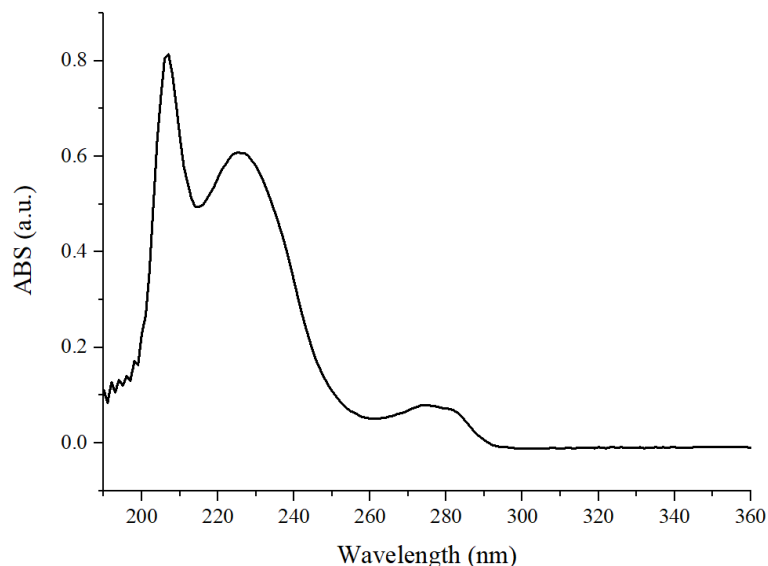


Figure 1. Absorption spectrum of dibutyl phthalate

图 1. DBP 的吸收光谱

在甲醇:水的比例为 95:5 和 85:15 时,目标峰与杂峰距离过近,无法准确分离目标峰,因此甲醇:水为 95:5 和 85:15 不作为流动相优选条件;在甲醇:水比例为 65:35 时,目标峰在 16 min 出现,实验所消耗时间过长,因此,甲醇:水 = 65:35 不作为优选的流动相比例进行实验。

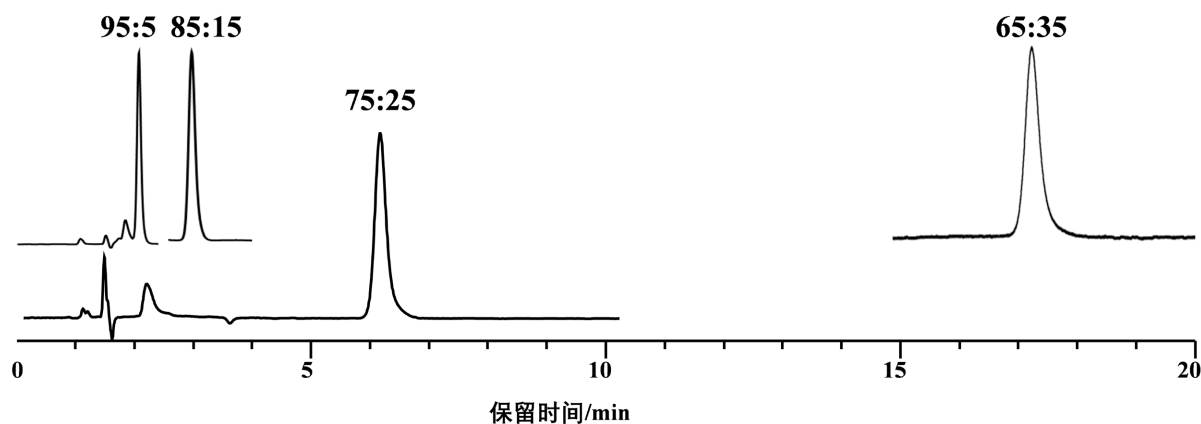


Figure 2. Optimization of mobile phase

图 2. 流动相的优化

当甲醇:水 = 75:25 时,目标峰与杂质峰能够有效的进行区分,且总的检测时间能够控制在 10 min 以内。因此,本方法选择甲醇:水 = 75:25 作为流动相。

3.3. 流速的优化

使用甲醇:水 = 75:25 作为流动相,分别选择 0.6、0.8、1.0、1.4 mL/min 的流速进行实验,对 5 μ g/mL DBP 标准溶液进行测试,如图 3 所示。

实验结果表明,在所设置的几种流动相流速条件下,目标峰与杂质峰均能够进行有效的分离。但在流动相流速为 0.6 和 0.8 mL/min 时,实验所需时间相对过长,因此 0.6 和 0.8 mL/min 不作为合理流速进行实验;尽管 1.0、1.2 和 1.4 mL/min 时均具有较好的峰形和分离度,但是在流动相高流速时目标峰与杂

质峰的距离相对偏近,在实际样本检测时目标峰容易受到样本中其他物质的干扰,因此不优选 1.2 和 1.4 mL/min 为实验合理流速。综合峰形和所需时间等条件,本研究优选 1.0 mL/min 作为流动相流速。

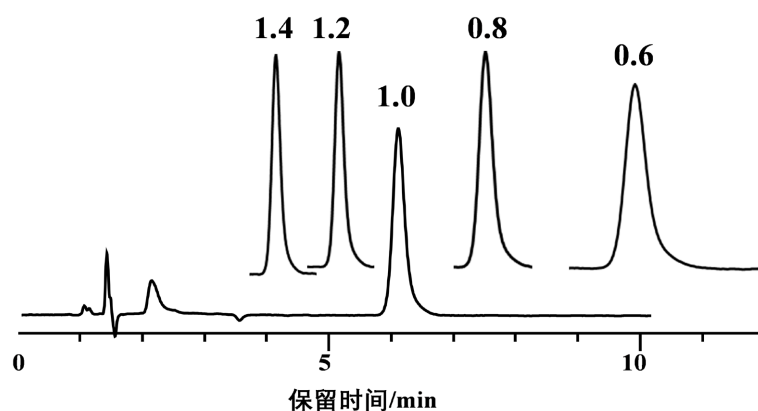


Figure 3. Optimization of flow rate
图3. 流速的优化

因此,本方法选择 1.0 mL/min 作为流动相流速。

3.4. 方法的线性范围及检出限

将系列标准工作液进样后,以峰面积 y (mAU) 为纵坐标,以标准品浓度 x ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标,进行线性回归如图 4 所示。在 0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, DBP 的线性回归方程为 $y = 16.06x + 0.61$, $r^2 = 0.9999$; 表明方法的线性关系良好。

以 $3s/n$ 作为最低检出限,测得 DBP 的检出限为 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 。

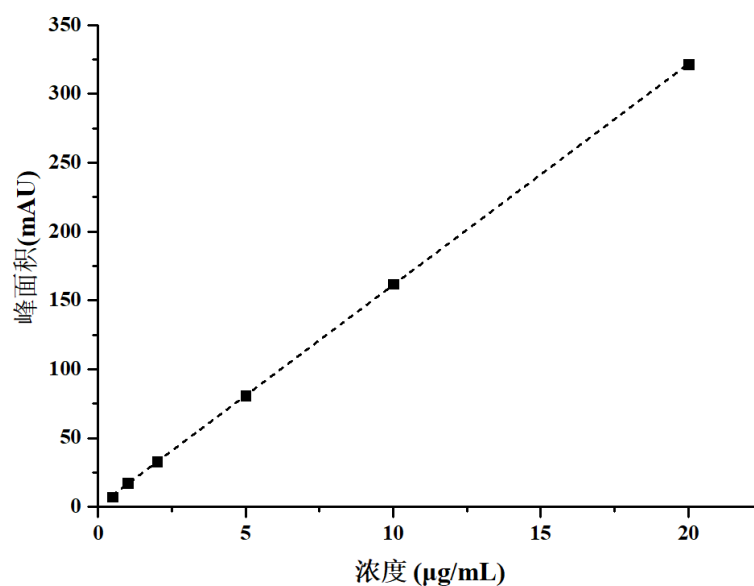


Figure 4. Standard curve of dibutyl phthalate detection
图4. DBP 检测标准曲线

3.5. 回收率及精密度实验

取散装白酒样本 2 种,在 1、5 和 20 $\mu\text{g/mL}$ 三个水平下进行加标回收实验,测定结果见表 1。

如表 1 所示, DBP 的加标回收率分别为 96%~104.6%, 相对标准偏差均小于 5%, 说明该方法的稳定性和准确度均能符合检测需求。

Table 1. Results of tests for precision and recovery (n = 3)

表 1. 准确度和回收试验结果(n = 3)

化合物	本底值($\mu\text{g/mL}$)	添加值($\mu\text{g/mL}$)	测定值($\mu\text{g/mL}$)	回收率(%)	RSD (%)
样本 1	0	1.00	0.99	99.0	4.8
		5.00	5.23	104.6	3.9
		10.00	10.20	102.0	3.5
样本 2	0.11	1.00	1.05	93.5	2.1
		5.00	5.25	102.8	5.6
		10.00	10.70	105.9	9.1

3.6. 实际样品测定

应用优化好的方法进行了市售白酒中 DBP 的含量测定, 色谱图 5 所示。结果显示, 在目标位置出现了峰形较好的待测物检测峰, 说明优化好的方法在实际样本检测时, 能够对待测物进行有效的分离和测定。

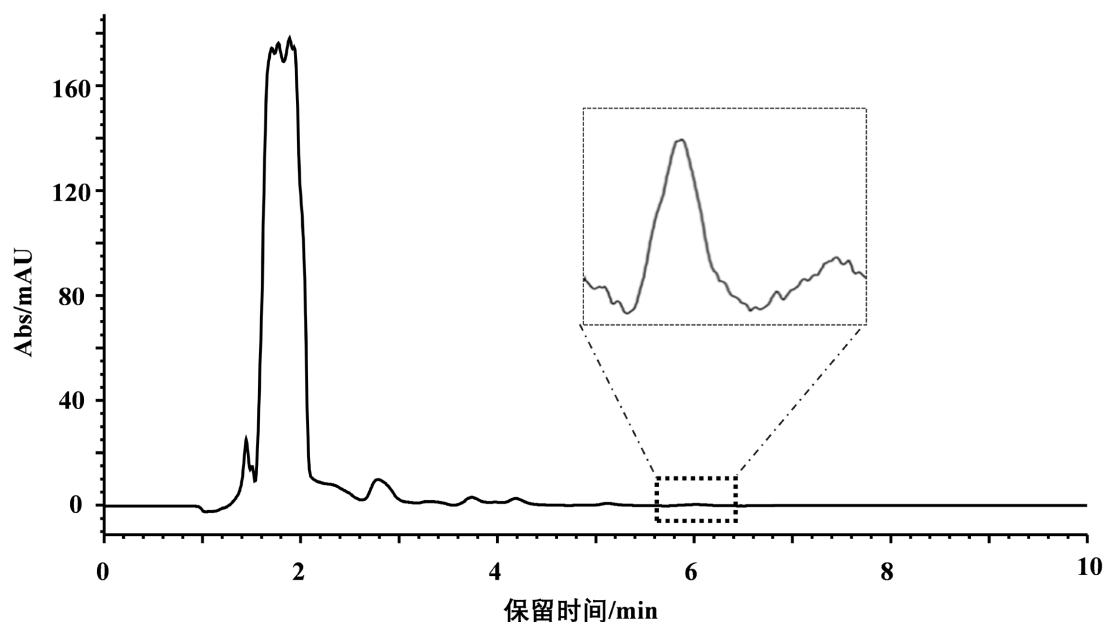


Figure 5. Chromatogram of actual sample detection

图 5. 实际样本检测色谱图

对市售的 10 种散装白酒样品进行了 DBP 含量的测定, 检出情况如表 2 所示。检测结果表明市面上的散装白酒中仍有个别产品具有一定含量的 DBP, 这有可能是在使用塑料容器运输、储藏的过程中迁移至白酒中的, 甚至存在人为添加的可能, 我们的检测方法和结果对散装白酒市场的质量监管具有一定的指导意义。

Table 2. Results of determination of dibutyl phthalate in white liquor ($\mu\text{g/mL}$)**表 2.** 白酒中邻苯二甲酸二甲酯的检测结果($\mu\text{g/mL}$)

样本编号	检测值	样本编号	检测值
1	未检出	6	未检出
2	0.11	7	未检出
3	未检出	8	未检出
4	未检出	9	未检出
5	未检出	10	未检出

4. 结论

本研究建立了一种利用高效液相色谱法快速测定白酒中的邻苯二甲酸二丁酯的检测方法, 通过优化样本的前处理方式, 简化了实验条件, 通过过滤、氮吹法等简便的实验处理方法进行白酒中邻苯二甲酸二丁酯的提取, 实现了目标分析物快速检测, 提高了检测效率。

结合 DBP 的紫外可见吸收光谱, 我们优先地选用 225 nm 作为定量检测的检测波长; 使用氮吹仪挥干及甲醇复溶的方式, 简易地进行样品的前处理, 对样本进行了浓缩, 有效地提取了目标分析物, 提高了实际样本检测时的检出限; 优先地选用甲醇-水作为流动相, 通过对甲醇-水的比例进行标准物质的检测, 选定甲醇:水 = 75:25 作为流动相; 测试了不同流速条件下, 流动相对待测物峰形、检测时间的影响, 优先地选用 1.0 mL/min 作为流动相流速; 在建立的实验条件下, DBP 在 0.5~20 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈现出良好的线性关系, 相关系数为 0.9999, 以 3 s/n 作为最低检出限, 方法的检出限为 0.05 $\mu\text{g/mL}$; 加标实验表明, 方法的回收率为 93.5%~105.9%, 相对标准偏差小于 10%。结果表明, 建立的实验方法具有稳定可靠的检测性能。

实验表明, 本研究建立的利用高效液相色谱法快速测定白酒中的邻苯二甲酸二丁酯的检测方法的检测效率极大提升、回收率及精密度高、可推广性强, 对市场白酒中的塑化剂的监管和检测具有重要的意义, 为食品监管部门后期做好白酒质量监管工作提供科学建议, 为人们的日常消费提供可行性参考。

基金项目

山东省自然科学基金(ZR2022QB149), 山东省中医药科技项目(Q-2022141)。

参考文献

- [1] 汪龙, 田明慧, 林亲录, 等. 白酒中塑化剂的检测方法与控制策略[J]. 食品工业科技, 2013, 34(11): 384-387.
- [2] 蔡英翔, 李忠海, 付湘晋, 等. 高效液相色谱法测定白酒中的邻苯二甲酸酯[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 110-113.
- [3] 万文博, 李劲彤, 李巧玲. 高效液相色谱法测定食用油中塑化剂的含量[J]. 中国食品添加剂, 2014(2): 220-224.
- [4] 纪晓娜, 薛路遥, 任志敏, 等. 高效液相色谱法检测城市污水中的邻苯二甲酸二丁(辛)酯[J]. 化学试剂, 2021, 43(10): 1376-1380.
- [5] 许文雅, 张宏宏, 林洋, 等. 高效液相色谱法快速测定白酒中纽甜的含量[J]. 食品工业, 2023, 44(2): 300-303.
- [6] 黄淑莲, 黄春英, 叶能权. 高效液相色谱法测定水中的邻苯二甲酸二丁酯和邻苯二甲酸二辛酯[J]. 中国职业医学, 2003(2): 45-46.
- [7] 韩敏, 樊晓涛, 郭艳利, 等. 高效液相色谱法测定简易塑料手套中邻苯二甲酸二丁酯的研究[J]. 应用化工, 2015, 44(11): 2018-2021.
- [8] 汤根平, 李世荣. 地表水中甲萘威和邻苯二甲酸二丁酯的联合测定[J]. 仪器仪表与分析监测, 2015(3): 34-36.

-
- [9] 杜伟. 高效液相色谱法测定精稳杀的含量[J]. 齐齐哈尔大学学报(自然科学版), 2007(2): 12.
- [10] 谢跃勤, 杨小萍, 吴巨. 高效液相色谱法测定饮料中塑化剂邻苯二甲酸二辛酯的研究[J]. 合肥师范学院学报, 2014, 32(6): 53-55.
- [11] 孙丽, 刘蕾, 孟庆顺, 等. 高效液相色谱法测定香水中邻苯二甲酸二乙酯含量的不确定度评定[J]. 湖北农业科学, 2021, 60(S1): 319-322.