

邻苯二甲酸酯检测方法的研究进展

李冰，李玉双

(区域污染环境生态修复教育部重点实验室,沈阳大学 环境学院,辽宁 沈阳 110044)

摘要:邻苯二甲酸酯(Phthalic acid esters, PAEs)是一类重要的全球性有机污染物,具有环境雌激素效应、生物累积和放大效应,可通过食物链对人体健康造成损害。当前环境PAEs污染问题普遍存在,其在环境介质中的含量已经成为评估环境污染程度的一项重要指标。该文在国内外众多学者研究的基础上,综述了色谱法、色谱-质谱连用法、分光光度法、化学发光免疫分析法等各种方法在不同介质内PAEs检测过程中的优缺点,并对其发展趋势进行了展望,提出便捷、高通量的前处理技术、高分辨率的多级串联质谱以及色谱-质谱连用技术是未来PAEs检测方法的发展方向。

关键词:邻苯二甲酸酯;检测方法;研究进展

中图分类号:O 658 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)18-0175-05

邻苯二甲酸酯(Phthalic acid esters, PAEs)是一种对不良环境具有高耐受性的有机化合物,常作为增塑剂添加到塑料中以提高其柔软度和延展性。PAEs与塑料基质的相溶性较好,但并不

第一作者简介:李冰(1992-),男,硕士研究生,研究方向为有机污染物的土壤污染生态效应。E-mail:709332593@qq.com。

责任作者:李玉双(1978-),女,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事污染环境修复与污染生态效应等研究工作。E-mail:ysli_syu@163.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21307084,21377139);沈阳市科学事业费竞争性选择(城市生态环境风险管理与修复技术)资助项目。

收稿日期:2017-04-11

形成共价键,而是由氢键或范德华力相连,可不断由塑料制品内迁移至外界环境^[1],目前,在土壤、水、空气、生物乃至人体中均可检测到PAEs,其引起的环境污染已受到全球性关注,被称为“第二个全球性PCB污染物”^[2]。PAEs具有环境雌激素效应、生物累积和放大效应,可通过食物链对人体健康造成损害。当前,环境PAEs污染问题普遍存在,评估环境污染程度的重要依据是环境介质中的PAEs含量,而选择合适的检测方法则成为对PAEs进行定性、定量分析的关键^[3]。近年来,有关PAEs检测方法的研究报道日益增多,该研究综述了色谱法、色谱-质谱连用法、分光光度法、化学发光免疫分析等各种方法在不同介质内PAEs检测过程中的优缺点,并对其发展趋势进行展望。

Abstract: Flower color is an important traits to measure the ornamental value of *Lilium*. A great attention has been paid to the research of breeding of *Lilium* currently, but the innovation of flower color comes into the bottleneck period. Although exists a large *Lilium* genus with abundant species and cultivars, the breeding of lilies is less developed in China, innovation of lily flower color is even still in the early stage. In this study, the related research achievements of lily flower color were summarized, and breeding of flower color were reviewed and prospected. The objective of this work was to provide a reference for breeding of new flower color lily cultivars.

Keywords: *Lilium*; flower color; breeding

1 PAEs 分析方法研究进展

1.1 气相色谱法

气相色谱法(Gas chromatography, GC),是利用待测样品中不同组分在固定相和流动相中分配系数不同的原理使不同化合物从色谱柱流出的时间不同,以达到分离复杂样品中不同化合物的目的。不同物质的保留时间不同,利用色谱峰高度或峰面积可进行定量分析。气相色谱法分析速度快、分离效率高、用样量少、灵敏度高,适于易挥发、热稳定样品的测定。

氢火焰离子化检测器(FID)、电子捕获检测器(ECD)常用于PAEs含量分析。胡继红等^[4]利用GC-FID测定白酒中的12种PAEs,发现色谱峰分离效果好,峰形近乎正态分布,精密度较高,回收率为75.51%~101.7%,最低检测浓度小于0.2 mg·L⁻¹;杨瑛等^[5]采用GC-FID法对含有16种PAEs的塑料包材进行测定,结果显示标准曲线的 $r > 0.996$,方法检出限为0.55~3.05 mg·kg⁻¹,方法回收率为82.1%~111.2%,相对标准偏差(RSD)为0.6%~8.9%。陈海东等^[6]建立了GC-ECD检测植物样中2种PAEs的方法,邻苯二甲酸二丁酯(DBP)的检出限为0.4 ng·g⁻¹,邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)的检出限为0.5 ng·g⁻¹,方法较灵敏。

PAEs沸点较高,对气化温度和柱温要求也较高,GC分析适用于DBP、DEHP等300℃以下易挥发的PAEs样品,不适用于邻苯二甲酸丁酯苯甲酯(BBP)等沸点较高、热不稳定的样品。GC对于含碳量高、相对分子量较大的PAEs异构体化合物的检测效果不如液相色谱法^[7]。此外,PAEs易污染检测器导致其灵敏度变化,因此,使用GC前要求对样品进行前处理^[8]。在定量分析时,常需用纯品校正检测输出的信号;在定性分析时,测得的色谱图必须与相应标准色谱峰比对或串联质谱、光谱仪。

1.2 高效液相色谱法

高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)是以高压液体为流动相,利用待测样品中不同物质与固定相亲和能力不同的原理对其进行分离,具有分析速度快、适用

范围广、用样量少、选择性好和灵敏度高等特点,色谱柱可反复使用。

由于PAEs呈弱极性,HPLC一般采用反相液相色谱法,流动相为甲醇-水或者乙腈-水,使PAEs通过C8柱或C18柱进行分离。PAEs在紫外区(224、280 nm)有强烈吸收,可用紫外检测器(UVD)进行检测,灵敏度较高^[9-10]。孙文闪等^[11]利用HPLC选择光电二极管阵列检测器(PDAD)测定化妆品中BBP、DBP和DEHP,结果表明 $r > 0.999$ 。回收率均在98.5%左右, $RSD < 4\% (n=6)$,最低检出限为6 mg·kg⁻¹,分析时间短、效率高;黄素华等^[12]利用超高效液相色谱(UHPLC)测定饮用水中DBP和DEHP的含量,检出限分别为0.3 μg·L⁻¹和0.4 μg·L⁻¹,RSD分别为1.59%~3.86%和1.99%~3.86%,加标回收率分别为95.0%~99.7%和98.0%~106.5%。正相液相色谱也可用于PAEs检测,流动相为正己烷或二氯甲烷,使PAEs通过氰基柱或胺基柱进行分离。FANG等^[13]利用正相HPLC检测了3种PAEs在垃圾渗滤液中的浓度变化情况,检测限为0.1 μg·L⁻¹。

与GC不同,HPLC不受样品挥发性和热稳定性的限制,数据可靠性较高,更便于完成待测样品的分离和定量回收,最低检出限高于GC^[14]。LC检测条件选择繁琐,具有“柱外效应”。洗脱时需要使用大量有毒有机溶剂如甲醇、乙腈等,易污染环境,同时其灵敏度比GC低。

1.3 色谱-质谱连用法

质谱法(Mass spectrometry, MS)是利用不同质荷比离子在电场和磁场中偏转角度不同的原理,使其分离后进行检测的方法。是在GC/LC的基础上联用一级或多级质谱,针对纯物质的质谱图进行定性分析,不适用于混合物。而色谱法可以有效分离混合物,适合有机化合物的定量分析。因此,将二者有效结合,相互补充,形成GC/LC-MS分析方法,此时质谱仪作为检测器,该分析方法具有双重功能,可同时对复杂化合物进行高效定性定量分析,分析速度快、用样量少、灵敏度高。

1.3.1 气相色谱-质谱法(GC-MS)

目前,GC-MS逐渐成为大部分PAEs定性定

量分析的常用方法。LI 等^[15]采用 GC-MS 同时测定食用油中 15 种 PAEs。方法线性范围在 $0.001\sim1.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $r>0.999$ 。方法定量限为 $0.001\sim2.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($S/N=10$), 在 $0.1、1.0、10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下, 回收率为 $70.50\%\sim112.00\%$, $RSD=0.59\%\sim7.54\%$, 仪器灵敏度较高。在样品净化处理过程中引进选择离子监测模式(SIM), 可进一步去除基质干扰, 提高灵敏度, 降低检出限, 便于准确定性和定量^[16]。颜慧等^[17]采用 GC-MS 测定水中 PAEs, 外标法定量, 选择 SIM 扫描方式, 方法检出限为 $0.002\sim0.030 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 平均加标回收率在 94.2% 左右, RSD 在 0.4% 左右。对于有机污染物痕量、存在严重背景干扰的复杂样品, 采用气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS), 选择多离子反应监测模式(MRM)有利于提高 PAEs 分析的准确性。宫俊杰等^[18]采用 GC-MS/MSMRM 模式测定黄瓜中 15 种 PAEs 残留, 结果表明: 线性关系良好, $r\geq0.9985$, 检出限较低, 在 $20、50、200 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3 个浓度下, 回收率达 $84.9\%\sim111.6\%$, RSD 为 $0.41\%\sim6.84\%$ 。

虽然 GC-MS 灵敏度和分离度很高, 但样品必须气化, 难用于极性、热不稳定和大分子化合物的测定。该检测方法对样品前处理的要求较高, 处理不当会损坏色谱柱。另外, GC-MS 使用成本较高, 远不及单独的气相色谱使用广泛。

1.3.2 液相色谱-质谱法(LC-MS)

目前, 液-质联用接口技术主要有电喷雾离子化(ESI)技术、大气压化学离子化(APCI)技术。LC-ESI-MS 技术在 PAEs 类 C6-C10 异构体混合物的测定中可通过特征离子进行定量, 解决了 GC-MS 法分离异构体混合物时分辨率较低、异构体基团间保留时间重叠的问题^[19]。张小涛等^[20]采用 LC-ESI-MS/MS 检测烟用香精香料中 16 种 PAEs 含量, 方法的定量限($S/N=10$)为 $0.28\sim37.5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 线性范围为 $50\sim1\,000 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 样品加标回收率在 $78.9\%\sim119.3\%$, RSD 为 $2.5\%\sim16.6\%$, 各色谱峰分离度良好; BLAIR 等^[21]通过 LC-ESI-MS-MS 检测海水及沉积物中的 PAEs, 回收率为 $70\%\sim110\%$ 。海水中 PAEs 检出限为 $0.19\sim3.98 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 沉积物为 $0.024\sim0.99 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, 低于以往报道的 GC-MS

方法检出限的 10~50 倍。采用 APCI-LC-MS 技术检测 PAEs 时, 得到的图谱清晰, 不会发生信号重叠, 灵敏度高。祝伟霞等^[22]采用 APCI-LC-MS-MS 测定油基食品中的 18 种 PAEs, 检测限均在 $0.05\sim0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 方法回收率为 $53.4\%\sim107.9\%$, $RSD=7.2\%\sim24.6\%$ 。通过比较发现 APCI 离子化效率与灵敏度均低于 ESI, 但 ESI 基质抑制现象明显。

LC-MS 以其高效、便捷、准确的优点成为分析不同环境介质中 PAEs 普遍应用的检测方法之一。但 GC-MS 在分离单组分化合物时检出限要低于 LC-MS, 同时, LC-MS 使用成本较高, 没有 GC-MS 普及。另外, 液质仪器多采用 Peak 管做管路材质, 本身带来的本底值较高, 使得样品中塑化剂检测受限, 而且操作人员需要较高的专业技能, 故目前 GC-MS 法使用更为普遍^[23]。无论是 LC 还是 LC-MS, 分析得到的谱图结构信息较少, 没有商品化谱库对比查询, 难于准确定性, 需要标准色谱峰比对或联用色谱、光谱才能获得直接结果。

1.4 分光光度法

分光光度法包括红外分光光度法、紫外分光光度法和荧光分光光度法。利用不同待测物质在特定波长光照射下对电磁辐射有选择性吸收的原理, 通过光谱图进行定性分析, 根据峰面积和峰高进行定量分析。具有检测速度快、灵敏度高、重现性好、不破坏样品等特点。

李祥辉等^[24]利用近红外透射光谱技术(NIR)准确预测到待测香精中添加有 PAEs, 通过建立模型进行定量分析, 结果显示邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯和邻苯二甲酸二异壬酯相对误差分别在 $-17.6\%\sim15.8\%$ 和 $-7.6\%\sim9.9\%$; 王运丽等^[25]采用 NIR 技术, 以加入 4 种 PAEs 的红茶为研究载体, 建立偏最小二乘回归方法(PLS)回归模型, 测定试样中 PAEs 总量及单一组分含量。结果表明, r 均大于 0.98; 段晓霞等^[26]采用红外光谱法(FTIR)及衰减全反射(ATR)检测技术测定聚氯乙烯(PVC)中 PAEs 含量。根据红外光谱图建立 PLS 回归模型, 结果表明 $r>0.9994$, 方法定量限低至 1%。PAEs 用紫外分光光度法检测时, 一般选择 224、280 nm 作为工作波长, 其灵

敏度和重现性都较好。林天斌^[27]用紫外分光光度法检测 DEHP、DBP,工作曲线的 $r > 0.990$, 加标回收率为 91.9%~102.7%, RSD 在 0.052%~0.226%, 与其它方法对比偏差在 -8.3%~11.9%, 表明方法准确性较好。蔡其洪等^[28]建立了 PAEs 的荧光分析法, 利用 PAEs 在浓硫酸下荧光增强的原理测得荧光强度与 PAEs 浓度在 5.00~600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 方法检出限为 0.57 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 回收率为 91.6%~105.1%; 夏静芬等^[29]根据 Fenton 反应原理, 在响应面法优化条件下, 以 1:1 的正己烷与二氯甲烷混合液作提取剂, 采用荧光法检测到螺蛳 PAEs 总量达 26.64~44.89 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, RSD 为 1.73%~6.56%, 加标回收率达 93.80%~106.11%。

分光光度法要求试样纯度高, 浓度适当, 对于多组分试样应进行预处理避免光谱相互干扰。其定性能力较强, 但定量能力差, 通常用作 PAEs 总量的测定, 很难分辨 PAEs 各组分, 故使用受限。

1.5 化学发光免疫分析法

化学发光免疫分析法是利用化学发光物质或酶标记的抗原或抗体发生特异性免疫反应后, 在氧化剂或酶发光底物作用下, 化学发光物质从激发态回到基态的过程中发射光子的原理, 通过发光信号测量仪器实施检测^[30]。不需要激发光, 避免了杂散光的影响。具有分析速度快、光信号持续时间长、动力学线性范围宽、灵敏度高、结果稳定、误差小、安全性好等优点。黄少文等^[31]采用间接竞争酶联免疫(icELISA)法检测邻苯二甲酸二乙酯(DEP), 结果表明最低检测限为 3.09 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 检测范围为 5.93~42.03 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 半抑制浓度(IC50)为 16.57 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 证明该方法适用于白酒中 DEP 的快速检测; ZHANG 等^[32]建立了 icELISA 吸附试验, 在优化条件下, 测得线性工作范围在 0.005~18.6 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, $r = 0.992$, 最低检测限为 0.0049 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 结构相似的 PAEs 组分交叉反应率小于 9%。证明 icELISA 是一种快速检测食品样品中 DEP 的方法。

2 问题与展望

PAEs 的分布广泛性和组分多样性, 增加了

待测样品预处理操作的复杂性, 构建便捷、高通量前处理技术甚至预处理、分离、检测自动化技术是定性定量检测的发展趋势; 对于 PAEs 中碳原子数较多的异构体化合物(DINP、DIDP)研究较少, 缺少高效的检测方法, 有待深入研究, 多级质谱串联以及高分辨率的色谱-质谱是未来检测方法的发展方向; 减少流动相中有机溶剂的使用量, 避免环境污染, 保护实验人员; 改进检测仪器管路材质, 使环境背景值降到最低, 减少对待测样品中 PAEs 检测的影响。

参考文献

- [1] 刘敏,林玉君,曾锋,等.城区湖泊表层沉积物中邻苯二甲酸酯的组成与分布特征[J].环境科学学报,2007,27(8):1377-1383.
- [2] 于晓章,乐东明,任燕飞.邻苯二甲酸酯在环境中的降解机制[J].生态科学,2015,34(4):180-187.
- [3] 樊诗亮,樊诗亮,何丽芝,等.土壤中邻苯二甲酸脂提取与检测方法的研究进展[J].环境污染与防治,2016,38(6):81-87.
- [4] 胡继红,李俊儒,段琼,等.GC 及 GC-MS 外标法检测白酒中邻苯二甲酸酯含量的优劣对比[J].酿酒科技,2016(9):119-124.
- [5] 杨瑛,樊文娟.GC-FID 法测定塑料包材中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物[J].食品科学,2013,34(20):250-254.
- [6] 陈海东,鲜啟鸣,邹惠仙,等.超声萃取气相色谱法测定植物样中邻苯二甲酸酯[J].环境化学,2006,25(2):228-231.
- [7] YE J,WU J,LIU W. Enantioselective separation and analysis of chiral pesticides by high-performance liquid chromatography [J]. Trac Trends in Analytical Chemistry, 2009, 28(10): 1148-1163.
- [8] 王丽霞.保护地邻苯二甲酸酯污染的研究[D].泰安:山东农业大学,2007.
- [9] 食品中邻苯二甲酸酯的测定:GB/T 21911-2008[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [10] 出口食品中邻苯二甲酸酯的测定:SN/T 3147-2012[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [11] 孙文闪,田富饶,杨兰花.高效液相色谱-二级管阵列检测器法测定化妆品中邻苯二甲酸酯[J].化学分析计量,2012,21(3):56-59.
- [12] 黄素华,何日安,田霆.正己烷液液萃取-超高压液相色谱法测定邻苯二甲酸酯[J].广西科学院学报,2012,28(4):253-255.
- [13] FANG C R, LONG Y Y, SHEN D S. Comparison on the removal of phthalic acid diesters in a bioreactor landfill and a conventional landfill [J]. Bioresource Technology, 2009, 100: 5664-5670.
- [14] 陈惠.酞酸酯类化合物快速分析方法的建立及其应用研究[D].北京:首都师范大学,2006.
- [15] LI L,SUN Q J,XIN S G, et al. Detection of phthalate esters

- from plastic packaging materials into edible oil by gas chromatography-mass[J]. Applied Mechanics and Materials, 2013, 395: 355-358.
- [16] MONDELLO L, TRANCHIDA P Q, DUGO P, et al. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry: A review[J]. Mass Spectrometry Reviews, 2008, 27(2): 101-124.
- [17] 颜慧, 张春雷. GC-MS 法测定水中邻苯二甲酸酯[J]. 环境科学与管理, 2009, 34(11): 111-113.
- [18] 宫俊杰, 孙欣, 王明林, 等. 改进 QuEChERS 方法结合气相色谱串联质谱检测黄瓜中的邻苯二甲酸酯类[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(1): 338-344.
- [19] 汤瑛. 邻苯二甲酸酯检测方法研究进展[J]. 科技成果管理与研究, 2011(4): 83-85.
- [20] 张小涛, 侯宏卫, 刘彤, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定烟用香精香料中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物[J]. 分析科学学报, 2013, 29(6): 806-810.
- [21] BLAIR J D, IKONOMOU M G, KELLY B C, et al. Ultra-trace determination of phthalate ester metabolites in seawater, sediments, and biota from an urbanized marine inlet by LC/ESI-MS/MS[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(16): 6262-6268.
- [22] 祝伟霞, 杨冀州, 袁萍, 等. 大气压化学电离-液相色谱串联质谱法测定油基食品中的 18 种邻苯二甲酸酯类化合物[J]. 现代食品科技, 2012, 28(1): 115-118.
- [23] 柴丽月. 食品及包装材料中邻苯二甲酸酯的检测与迁移规律的初步研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2008.
- [24] 李祥辉, 杨方, 林振宇, 等. 近红外光谱法应用于食用香精中增塑剂的检测研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(3): 690-693.
- [25] 王运丽, 史新元, 吴志生, 等. 利用近红外光谱技术快速检测邻苯二甲酸酯类物质[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5): 86-90.
- [26] 段晓霞, 沈光来, 孙世彧. 红外光谱法快速检测聚氯乙烯中的邻苯二甲酸酯[J]. 塑料科技, 2015(2): 86-89.
- [27] 林天斌. 紫外分光光度法测定塑化剂含量的研究与探讨[J]. 化学工程与装备, 2013, 42(12): 154-156.
- [28] 蔡其洪, 武园园, 林江伟. 荧光法快速测定邻苯二甲酸酯的总量[J]. 应用化学, 2015, 32(1): 118-122.
- [29] 夏静芬, 张仕榜, 金婷婷, 等. 荧光法测定贝类邻苯二甲酸酯总量的条件优化[J]. 食品工业科技, 2013, 34(5): 304-308.
- [30] 金茂俊, 邵华, 金芬, 等. 化学发光免疫分析方法的研究及应用[J]. 农产品质量与安全, 2012(2): 42-46.
- [31] 黄少文, 翁利华, 孙远明, 等. 白酒中邻苯二甲酸二乙酯的化学发光酶联免疫分析方法[J]. 食品与发酵工业, 2016(8): 178-183.
- [32] ZHANG M, YU X, WANG Y, et al. A highly sensitive indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ic-ELISA) by antigen coating for diethyl phthalate analysis in foods [J]. Food Analytical Methods, 2013, 6(4): 1223-1228.

Research on the Detection Technology of Phthalic Acid Esters

LI Bing, LI Yushuang

(Key Laboratory of Regional Environment and Eco-Remediation of Ministry of Education/Environmental College, Shenyang University, Shenyang, Liaoning 110044)

Abstract: Phthalic acid esters (PAEs) is a kind of important global organic pollutant, which has the effect of environmental estrogen, biological accumulation and amplification. It can cause damage to human health via the food chain. The current environment PAEs pollution problems generally existed, and its content in the environmental media have become an important indicator to assess the degree of environmental pollution. Based on the study of many scholars at home and abroad, this study summarized the chromatography, chromatography mass spectrometry, spectrophotometry and chemiluminescence immune analysis methods in different media-PAEs detection and their advantages and disadvantages, analyzed theirs development prospect. The development direction of the future detection methods was put forward, which was convenient-high throughput pre-processing technology, high resolution tandem mass spectrometry and chromatography mass spectrometry.

Keywords: phthalic acid esters; detection method; research progress