

超高效液相色谱 – 串联质谱法测定 食品包装纸中的酚类化合物

王天娇¹, 林勤保¹, 宋欢², 李波¹

(1. 山西大学 应用化学研究所, 山西 太原 030006 2 山西省出
入境检验检疫局技术中心, 山西 太原 030024)

摘要: 建立了食品包装纸中 2, 4, 6-三氯酚、五氯酚、4-氯-3, 5-二甲基-苯酚和 4-叔辛基酚的超高效液相色谱 – 串联质谱 (UPLC-MS/MS) 分析方法。样品经丙酮超声萃取, Oasis HLB 固相柱净化后, 用 Waters ACQUITY UPLC C₁₈ 柱以乙腈和 0.05% 氨水为流动相进行分离, 以负离子模式离子化, 在多离子反应监测 (MRM) 模式下定量检测。在优化实验条件下, 2, 4, 6-三氯酚的线性范围为 20~1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 五氯酚、4-氯-3, 5-二甲基-苯酚和 4-叔辛基酚的线性范围为 5~1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 相关系数均大于 0.997。4 种酚类化合物的检出限为 1~10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 定量下限为 5~20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 加标回收率为 75%~109%, 相对标准偏差均不高于 12.5%。该方法灵敏度高、操作简单, 可用于食品包装纸中酚类化合物含量的快速检测。

关键词: 食品包装纸; 烷基酚; 氯酚; 固相萃取; 超高效液相色谱 – 串联质谱

中图分类号: O657.63 O625.311 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2010)12-1153-05

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2010.12.006

Determination of Phenols in Food Packaging Paper by Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

WANG Tian-jiao¹, LIN Qin-bao¹, SONG Huan², LI Bo¹

(1. Institute of Applied Chemistry, Shanxi University, Taiyuan 030006, China 2 Shanxi
Border Inspection and Quarantine Bureau, Taiyuan 030024, China)

Abstract An ultra performance liquid chromatography – tandem mass spectrometric (UPLC-MS/MS) method was developed for the determination of phenols including 2, 4, 6-trichlorophenol (TCP), pentachlorophenol (PCP), 4-chloro-3, 5-dimethylphenol (SPMX) and 4-tert-octylphenol (4-tert-OP) in paper for food packaging. Ultrasonic extraction with acetone and Oasis HLB solid-phase column purification was used. The separation was carried out on an ACQUITY UPLC C₁₈ column using a mobile phase consisting of acetonitrile and 0.05% ammonia. The separation of target compounds was performed under multiple reaction monitoring (MRM) mode with negative electrospray ionization (ESI). Under the optimal conditions, the calibration curves were linear in the range of 20–1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ for TCP and 5–1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ for PCP, SPMX and 4-tert-OP, with correlation coefficients more than 0.997. The limits of detection (LODs) were between 1 and 10 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the limits of quantitation (LOQ) were between 5 and 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The spiked recoveries for four phenols were between 75% and 109% with RSDs ($n=6$) no more than 12.5%. The proposed method was sensitive and rapid and was suitable for the determination of phenols in paper or board for food packaging.

Key words food packaging paper; alkylphenol; chlorophenols; solid-phase extraction; UPLC-MS/MS

烷基酚 (Alkylphenols, APs) 和氯酚 (Chlorophenols, CPs) 因可在环境中持久存在, 近年来成为国际

收稿日期: 2010-07-21 修回日期: 2010-08-25

基金项目: 国家质检总局科技计划资助项目 (2009IK289)

第一作者: 王天娇 (1984-), 女, 山西朔州人, 硕士研究生

通讯作者: 林勤保, Tel: 0351-7011743 E-mail: qblin@sxu.edu.cn

上研究的热点。4-叔-辛基酚 (4-tOP) 在造纸中用作增塑剂和表面活性剂, 但具有雌激素与慢性毒效应。2, 4, 6-三氯酚 (TCP)、五氯酚 (PCP)、4-氯-3, 5-二甲基-苯酚 (SPMX) 用于造纸工业中纸浆的防腐杀菌。目前, 纸包装以其良好的物理性能和环保优势在食品行业中广泛使用, 为保障消费者的食品安全, 欧盟限定五氯酚在食品包装纸中的最大残留限量为 $0.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其它几种酚类物质的最大残留限量待定^[1]。目前食品包装纸中酚类化合物的检测方法较少文献报道。因此, 建立一种快速、灵敏、准确的分析方法用于检测食品包装纸中的酚类化合物具有重要意义。

文献报道的烷基酚和含氯苯酚的分析方法主要有高效液相色谱法^[2-4]、气相色谱-质谱法^[5]、液相色谱-质谱法^[6-13]等。由于含氯苯酚化学结构中苯环上含有羟基, 使分子的极性增强, 有时需要衍生化后才能进行气相色谱或气相色谱-质谱联用法分析, 其中辛基酚极性较差、挥发性低, 因此用液相色谱分析具有更好的效果。在环境、生物、食品、包装材料等样品的预处理中, 固体基质多采用索氏提取^[14]、超声萃取^[3]、快速溶剂萃取^[4, 7, 15]、固相微萃取^[5, 16]、微波辅助萃取^[17]和基质固相分散^[8, 12], 水相基质多采用液-液萃取^[6, 10]和固相萃取^[9, 18]。

本文建立了同时检测 4 种酚类化合物的超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法。食品包装纸用丙酮超声萃取、固相萃取柱净化, 在 6 min 内完成了 4 种酚类化合物的快速分离检测, 方法准确、简便、快速, 能够为食品包装纸的实际检验工作和产品质量控制提供科学依据和技术支持。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 超高效液相色谱-串联四极杆质谱仪 (ACQUITY UPLC/TQ Detector); Masslynx 4.0 工作站; S 900H 超声波清洗器 (Eimasonic, 德国); BUCHIR-215 旋转蒸发器 (Buchi, 瑞士); N-EVAP 型氮吹仪 (Organomation, 美国); 振荡器 (Barnstead, 美国)。

2, 4, 6-三氯酚 (492 mg/L)、五氯酚 (497 mg/L) 由中国地质科学院物化探研究所提供; 4-氯-3, 5-二甲基-苯酚 (纯度 99%, Dr. Ehrenstorfer, 德国); 4-叔-辛基酚 (纯度 97%, Sigma-Aldrich, 德国); 甲醇、乙腈为液相色谱纯 (Dikma, 加拿大); 乙醇、二氯甲烷、丙酮、氨水 (25%) 均为分析纯 (Kemel, 天津); Milli-Q 纯水系统 (Millipore 公司); Oasis HLB 富集柱 (6 mL/200 mg Waters 公司, 美国)。

1.2 标准溶液的配制

分别准确称取各固体标准品 10.0 mg, 用甲醇溶解定容至 10 mL, 配制成 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准储备溶液, 置于 4 °C 冰箱冷藏放置, 使用时根据需要用甲醇稀释成不同浓度的标准工作溶液。TCP 与 PCP 标准品为液态, 用甲醇直接稀释成不同浓度的标准工作溶液。

1.3 样品的前处理

将市售无印刷的食品包装纸剪碎 (约 1 cm^2), 准确称取 1.0 g 于 50 mL 离心管中, 加入 15 mL 丙酮超声提取 15 min 后, 提取液转移至 150 mL 旋转蒸发瓶中, 重复提取 2 次, 合并提取液, 用旋转蒸发器在 35 °C 水浴减压浓缩至近干, 加入 1 mL 甲醇溶解残渣, 溶液用固相萃取柱净化。Oasis HLB 固相萃取柱经 5 mL 甲醇和 5 mL 超纯水活化后加入超声提取后的浓缩液, 2 mL 超纯水淋洗, 用真空泵将固相萃取柱中残留的水分抽去, 5 mL 甲醇-二氯甲烷 (1:4 体积比) 溶液洗脱, 收集洗脱液, 氮气流干, 用甲醇溶解定容至 1 mL, 振荡均匀后过 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜, 待 UPLC-MS/MS 分析。

1.4 UPLC-MS/MS 条件

1.4.1 超高效液相色谱条件 色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C_{18} ($50 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$, $1.7 \mu\text{m}$), 柱温: 35 °C, 进样体积: $5 \mu\text{L}$, 流速: $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 流动相为乙腈 (A) 和 0.05% 氨水 (B); 梯度洗脱程序: 0~2 min, 10%~20% A; 2~3 min, 20%~50% A; 3~5 min, 50%~70% A; 5~7 min, 70%~45% A; 7~8 min, 45%~10% A。

1.4.2 ESIMS MS 质谱条件 离子化模式: ESI-; 锥孔气流速: $650 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$; 离子源温度: 110 °C; 脱溶剂气温度: 350 °C; 毛细管电压: 2.9 kV; 脱溶剂气流速: $50 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ 。各酚类化合物的质谱采集参数见表 1。

表 1 4 种酚类化合物的 ESIMS/MS 质谱参数
Table 1 ESIMS/MS parameters of four phenols

Compound	Precursor /Product ion(<i>m/z</i>)	Cone voltage <i>U</i> / <i>N</i>	Collision energy <i>U</i> / <i>N</i>
Pentachlorophenol(五氯酚, PCP)	264.9/34.9 ⁸ , 264.9/264.9	46, 46	28, 0
2,4,6-Trichlorophenol(2,4,6-三氯酚, TCP)	195.0/34.8 ⁸ , 195.0/158.8	40, 40	18, 18
4-Chloro-3,5-diethylphenol(4-氯-3,5-二甲基苯酚, SPMX)	154.9/34.8 ⁸ , 154.9/119.0	30, 30	18, 15
4-tert-Octylphenol(4-叔辛基酚, 4-tOP)	205.2/133.0 ⁸ , 205.2/134.1	40, 40	30, 25

* quantitative ion

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

流动相影响质谱检测的灵敏度。质谱检测负离子模式下，弱碱性缓冲液作流动相能增强灵敏度，但碱性太强会缩短色谱柱寿命。因此选择 0.05% 氨水作流动相 B。与乙腈相比，以甲醇作流动相 A 时所得的峰形较宽，保留时间延长，故选择乙腈作流动相 A。

2.2 质谱条件的优化

用初始流动相稀释各酚类化合物的标准溶液至 1 mg·L⁻¹，对各物质进行全扫描，确定其母离子质量数，然后分别对子离子及碰撞能量进行优化，选择丰度最高的碰撞能量作为最佳碰撞能量，选择两个丰度较高的子离子作为定性和定量离子，建立多离子反应监测 (MRM) 模式，4 种酚类化合物的 MRM 色谱图及总离子流图见图 1，由图可见，4 种酚类化合物可在 6 min 内得到分离。

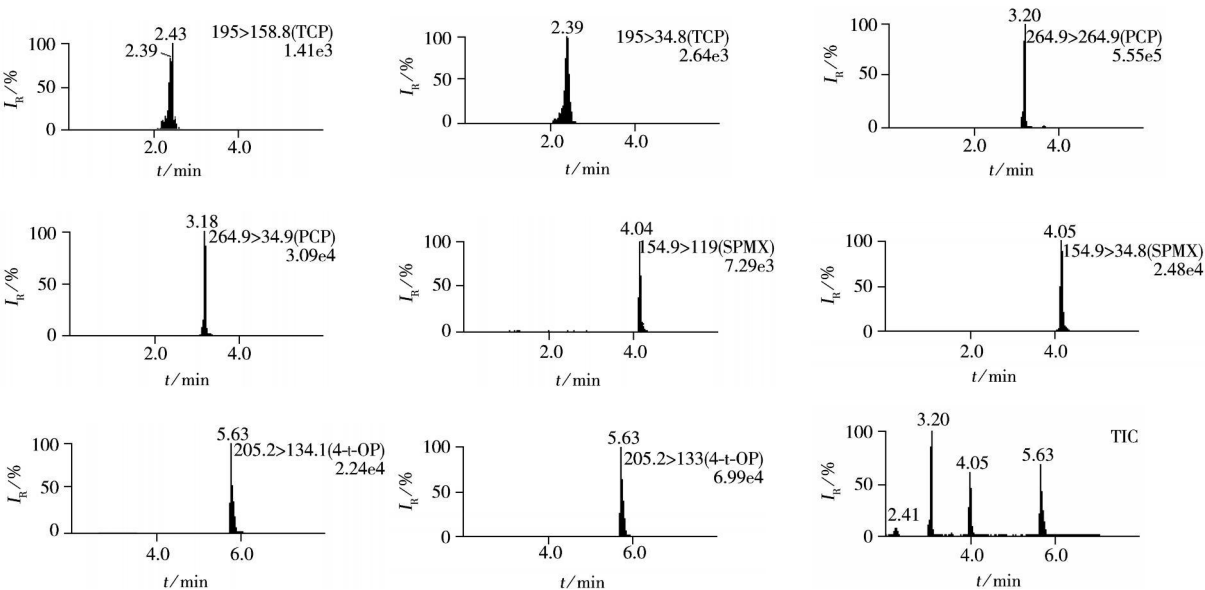


图 1 4 种酚类化合物的 MRM 色谱图及总离子流图
Fig. 1 MRM chromatograms and total ion chromatogram of four phenols

2.3 超声萃取溶剂的选择

固体基质中烷基酚和氯酚类化合物的提取溶剂有乙醇、丙酮、二氯甲烷、正己烷等。本文分别选用乙醇、丙酮、二氯甲烷为提取液，在纸样中加 100 μg·L⁻¹ 混合标准溶液进行提取。结果表明，二氯甲烷提取的回收率最差，与乙醇相比，丙酮提取 TCP 的回收率更高 (见表 2) 且蒸发浓缩得更快，因此实验选择丙酮作为超声提取液。

2.4 固相萃取净化条件的优化

由于食品包装纸的样品基质复杂，需对样品提取液进行净化。富集柱 Oasis HLB 可用于烷基酚和氯酚类化合物的固相萃取^[6,9,18]，所以本文采用该柱进行净化。将 100 μg·L⁻¹ 的混合标准溶液过柱，

表 2 超声提取溶剂对 4 种酚类化合物回收率的影响
Table 2 Effect of different extraction solvents on recoveries of four phenols

Compound	Recovery <i>R</i> / %		
	Dichloromethane	Ethanol	Acetone
PCP	50	97	97
TCP	< 10	62	84
SPMX	51	70	92
4-tOP	69	103	107

考察不同配比的甲醇－二氯甲烷混合液对 4 种酚类化合物的洗脱效果。由图 2 可知，用甲醇－二氯甲烷混合液 (1：4) 洗脱时的回收率最高。进一步对洗脱液的洗脱体积进行了考察，结果表明，4 mL 甲醇－二氯甲烷 (1：4) 洗脱时，回收率较好，达到 83%~107% (见图 3)。因此，选择 4 mL 甲醇－二氯甲烷 (1：4) 洗脱富集柱中的酚类化合物。

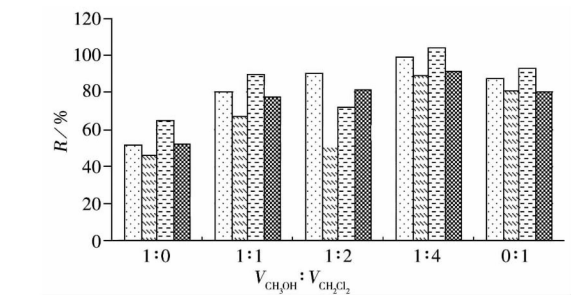


图 2 不同比例甲醇与二氯甲烷洗脱液的影响
Fig. 2 Effects of different proportions of methanol and dichloromethane
□ PCP, ▨ TCP, ▤ SPMX, ▩ 4-t-OP

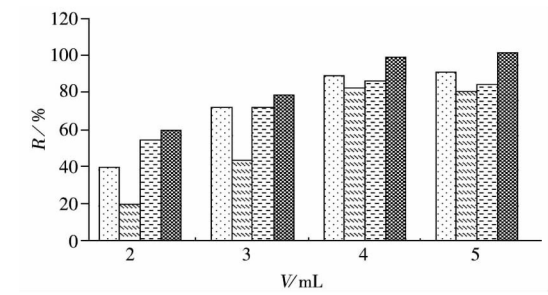


图 3 洗脱溶剂总体积的影响
Fig. 3 Effects of volume of solvent elutions
□ PCP, ▨ TCP, ▤ SPMX, ▩ 4-t-OP

2.5 方法的线性范围与检出限

分别选取 7 个质量浓度 (5 10 20 50 100 500 1 000 μg·L⁻¹) 进样，绘制标准曲线，结果表明，PCP、SPMX、4-*t*-OP 在 5~1 000 μg·L⁻¹，TCP 在 20~1 000 μg·L⁻¹ 范围内线性良好 ($r>0.997$)，根据 $SN=3$ 计算各物质的检出限 (LOD)， $SN=10$ 计算各物质的定量下限 (LOQ)，并以实际浓度的标准品进样确认。各物质的线性方程、检出限和定量下限见表 3。

2.6 酚类化合物的回收率与相对标准偏差

在 1.0 g 不含目标物的包装纸中分别加入高、中、低 3 个水平的标准溶液，按“1.3”处理后测定，考察待测物质的回收率及相对标准偏差 (RSD, $n=6$)，结果见表 3。样品的回收率为 75%~109%，相对标准偏差为 3.3%~12.5%。

表 3 4 种酚类化合物的线性范围、线性方程、检出限、定量下限及加标回收率
Table 3 Linear ranges, linear equations, limits of detection (LOD), limits of quantitation (LOQ) and spiked recoveries of four phenols

Compound	Linear range $\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	Linear equation	r	LOQ $w/(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	LOD $w/(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	Added $\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	Recovery $R/\%$	RSD $s_r/\%$
PCP	5~1 000	$y=4.292x-4.123$	0.999 5	5	1	10 50 100	109.86 91	9.1 6.1 3.3
TCP	20~1 000	$y=0.8033x+7.495$	0.997 9	20	10	10 50 100	75.81 82	12.5 7.3 9.8
SPMX	5~1 000	$y=3.177x+37.11$	0.998 5	5	1.5	10 50 100	87.91 89	11.6 8.4 7.5
4- <i>t</i> -OP	5~1 000	$y=18.82x-82.75$	0.999 2	5	1	10 50 100	91.108 91	3.4 5.8 6.9

2.7 样品测定

运用建立的方法对 3 种食品包装纸进行检测，仅有 1 种样品中检出 4-*t*-OP，含量为 11.2 μg·kg⁻¹。其他纸样均未检出待测物质。

3 结 论

本文建立了食品包装纸中氯酚和烷基酚类化合物的超高效液相色谱分离、电喷雾电离 MRM 多反应监测技术，优化了复杂样品基质经超声提取和固相萃取柱净化的前处理方法。方法准确、简便、快速，具有较宽的线性范围，较好的稳定性和样品净化效果，是食品包装纸中酚类化合物含量快速检测的理想方法。

参考文献:

[1] 欧盟食品接触材料法规与指南编译组. 欧盟食品接触材料法规与指南 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009.
[2] 吴梅贤. 高效液相色谱法同时测定水中的 9 种酚类化合物 [J]. 净水技术, 2008, 27(6): 66-68.

- [3] 叶曦雯, 罗忻, 丁玉龙, 牛增元, 包艳. 高效液相色谱法测定木材及其制品中的酚类防腐剂 [J]. 分析试验室, 2009, 28(6): 57-60
- [4] 马强, 白桦, 王超, 张庆, 肖海清, 周新, 闫妍, 董益阳, 王宝麟. 高效液相色谱法对纺织品和食品包装材料中的壬基酚、辛基酚和双酚 A 的同时测定 [J]. 分析测试学报, 2009, 28(10): 1160-1164
- [5] 吕刚, 王利兵, 刘军, 李淑芬. 包装材料中的酚类环境雌激素的测定——固相微萃取/气相色谱质谱法 [J]. 分析试验室, 2008, 27(9): 73-75
- [6] 金米聪, 陈晓红, 李小平, 陈衡平. 高效液相色谱-电喷雾电离质谱联用法测定水中痕量五氯酚研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(3): 281-286
- [7] 王静, 潘荷芳, 刘铮铮, 刘劲松. 超高效液相色谱-串联质谱法测定土壤中烷基酚 [J]. 分析测试学报, 2007, 26(8): 210-212
- [8] 邵兵, 高迎新, 韩灏. 基质固相分散萃取-液相色谱-质谱/质谱测定牛奶和鸡蛋中的烷基酚和双酚 A [J]. 环境化学, 2005, 24(4): 483-484
- [9] 陈砚朦, 钟淑婷, 甘凤娟, 韩媛媛, 肖湖, 周明灿, 张少彬. 超高效液相色谱/串联质谱分析生活饮用水中 2,4-滴、2,4,6-三氯酚和五氯酚的方法研究 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(12): 2463-2466
- [10] 叶赛, 那广水, 姚子伟, 关道明, 张奎文. 高效液相色谱-串联质谱法测定环境水体中双酚 A、辛基酚、壬基酚 [J]. 分析试验室, 2008, 27(8): 62-66
- [11] 洪爱华, 尹平河, 黄晓兰. 高效液相色谱-质谱联用法测定纺织品中的含氯苯酚 [J]. 分析试验室, 2009, 28(11): 88-90
- [12] SHAO B, HAN H. Analysis of alkylphenol and bisphenol A in eggs and milk by matrix solid phase dispersion extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2007, 850(1/2): 412-416
- [13] CHOI J O, JITSUNARI F, LEE D S. Determination of alkylphenol and alkylphenolethoxylates in biota by liquid chromatography with detection by tandem mass spectrometry and fluorescence spectroscopy [J]. J Chromatogr A, 2003, 1010(1): 25-35
- [14] FERNANDES A R, ROSE M, CHARLTON C. 4-Nonylphenol (NP) in food contact materials: Analytical methodology and occurrence [J]. Food Addit Contam, 2008, 25(3): 364-372
- [15] FAVARO G, DE LEO D, PASTORE P, MAGNO A F, BALLARDI N A. Quantitative determination of chlorophenols in leather by pressurized liquid extraction and liquid chromatography with diode array detection [J]. J Chromatogr A, 2008, 1177(1): 36-42
- [16] DOMÉNO C, MUNIZZA G, NERÍN C. Development of a solid-phase microextraction method for direct determination of pentachlorophenol in paper and board samples: Comparison with conventional extraction method [J]. J Chromatogr A, 2005, 1095(1/2): 8-15
- [17] LATORRE A, IACORTE S, BARCELÓ D, MONTURY M. Determination of nonylphenol and octylphenol in paper by microwave-assisted extraction coupled to headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2005, 1065(2): 251-256
- [18] 韩灏. 食品中内分泌干扰物壬基酚、辛基酚和双酚 A 的检测 [D]. 天津: 天津大学, 2005.