



· 论 著 ·

气质联用法快速测定白酒中的 15 种邻苯二甲酸酯

曾小元, 沈 平, 谢朝梅, 谢燕湘 (常德市疾病预防控制中心, 湖南常德 415000)

摘要: **目的** 建立用气相色谱质谱联用仪快速检测白酒中 15 种邻苯二甲酸酯类化合物含量的方法。**方法** 白酒样品经煮沸 2min 后冷却, 加入正己烷超声提取 1min, 2000 转离心后取上清液进样分析。**结果** 实验结果显示 15 种被测组分能够很好的分离, 最低检出限为 0.005 - 0.01 mg/L, 加标回收率为 83.6% - 99.7%, RSD 为 1.5% - 6.1%。**结论** 本方法能快速对白酒中的塑化剂成分进行测定, 实验结果显示灵敏度、重现性良好, 准确度和精密度较高, 可用于实际检测分析。

关键词: GC/MS 邻苯二甲酸酯 塑化剂 白酒

中图分类号: TS262.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2016) 09-010-03

Rapid determination of 15 phthalate esters in liquors by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Zeng Xiao-yuan, Shen Ping, Xie Chao-mei, Xie Yan-xiang (Changde Center for Disease Control and Prevention, Changde 415000, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of 15 phthalate esters (PAEs) in liquors by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Methods** Liquor samples by boil 2 min after cooling, add 1 min n-hexane ultrasonic extraction, 2000 turn after centrifugal supernatant on sample analysis. **Results** Experimental results show that the 15 kinds of measured components can very good separation, the minimum detection limit of 0.005 - 0.01 mg/L, standard addition recovery was 83.6% - 99.7%, RSD was 1.5% - 6.1%. **Conclusion** This method can quickly to determination of the composition of plasticizer in liquor, the experimental results show that the sensitivity, good reproducibility, high accuracy and precision, and can be used in the analysis of actual testing.

Key words: GC/MS Phthalic acid ester Plasticizer liquor

塑化剂的化学组成主要为邻苯二甲酸酯类化合物 (phthalate acid esters, PAEs), 此类物质加在塑料中可以增加塑料的柔韧性^[1]。PAEs 作为一种常用的塑料制品增塑剂广泛存在于各种塑料制品中, 如医疗器械 (输液管、血袋、透析用品等)、儿童玩具、食品包装袋等, 其他还包括化妆品、清洁剂、室内装潢材料等^[2]。PAEs 对人体的毒性主要为生殖遗传毒性, 能对雄性动物的睾丸、前列腺、精囊的重量和组织形态学异常以及外生殖器畸形, 精子数量下降、精子畸形率升高, 雄性雌性化 (肛门生殖距离减小, 乳头/乳晕保留), 青春期发育异常等, 其机制主要为干扰激素合成和分泌、损伤生精细胞和 Sertoli 细胞、通过细胞凋亡机制致生精细胞凋亡脱落产生对睾丸的损害^[3-6]。人体对 PAEs 吸收后, 会导致内分泌失调; 若长期食用含 PAEs 的食品, 可能引起生殖系统异常^[7-8]。白酒中的乙醇对 PAEs 具有很好的溶解性, 因此白酒是人体摄入塑化剂的主要食品之一。目前对邻苯二甲酸酯类化合物的检测方法比较多, 但前处理都比较复杂^[9-10], 由于塑化剂极易污染, 所以样品前处理简单对检测结果尤为重要, 本文采用简单提取方法, 减少过程带来的污染, 对白酒中的邻苯二甲酸二甲酯等 15 种塑化剂用气质联用仪检测, 为白酒中塑化剂检测提供准确快速的方法。

1 材料与方法

1.1 仪器设备

GCMS-QP2010 Plus 及 AOC-20i+s 自动进样器, 日本 SHIMADZU; KQ-250DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; VORTEX QL-902 型混匀器, 上海市其林贝尔仪器厂; XiangYi TGL-20M 离心机,

长沙湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 材料试剂

正己烷, 色谱纯, 天津市纵横兴工贸有限公司化学试剂分公司。

1.3 样品制备与提取

取约 20ml 白酒样品于干净的 100ml 烧杯中, 煮沸 1min 后冷却, 称取 10.00g 煮沸冷却后的样品于 50 mL 玻璃具塞离心管中, 加入 10ml 正己烷, 涡旋震荡 1min 后超声 1min, 2000 转离心 5min 后吸取 1ml 到 1.5ml 样品小瓶, 待进样分析。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱: Rxi-5ms, 30m×0.32mmID×0.25 μm df, 美国 RESTEK; 进样口温度 250℃, 不分流进样, 载气为氮气, 进样时间 1min, 线速度流量控制方式, 压力 73.0kpa, 总流量 39.5ml/min, 柱流量 1.0ml/min, 线速度 37.2cm/sec, 吹扫流量 4.0 ml/min; 进样量 1 μL。

GC 温度程序: 初始温度 60℃, 保持 1min, 以 20℃/min 升至 220℃, 保持 1min, 再以 25℃/min 升至 280℃, 保持 10min。

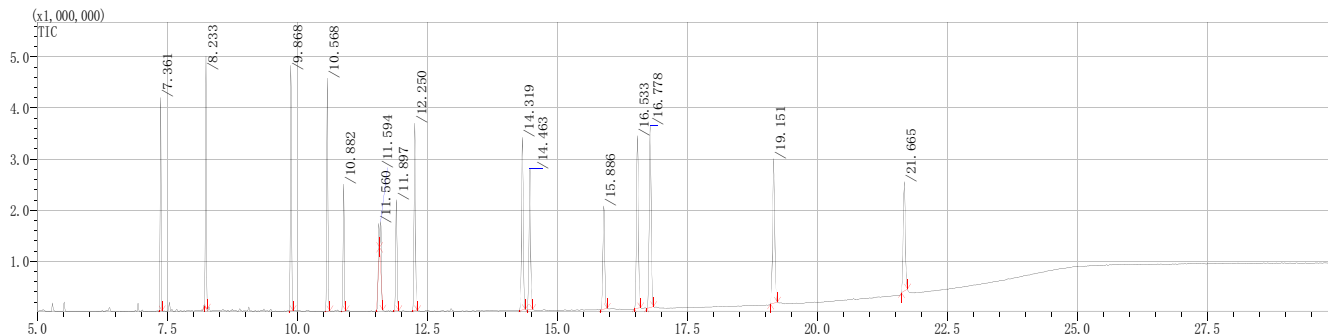
1.4.2 质谱条件

EI 源, 温度 200℃; 溶剂延长时间 4min, 检测器电压 1.0kv (绝对值), 阈值 1000。

2 结果与讨论

2.1 标准物质的定性、定量。

2.1.1 标准物质 15 种塑化剂的定性全扫描图见下图 1。



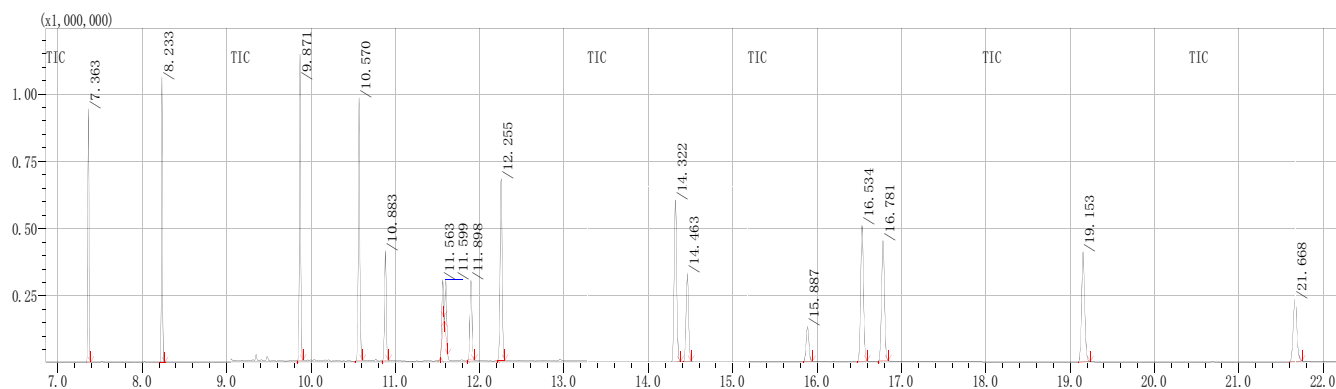
作者简介: 曾小元 (1974-), 女, 检验师, 主要从事理化检验工作。

DMP, 7.361min; DEP, 8.233 min; DIBP, 9.868min; DBP,



10.568min; DMEP, 10.882 min; DMPP-1, 11.560min; DMPP-2, 11.594min; DEEP, 11.897min; DPP, 12.250 min; DHXP, 14.319 min; BBP, 14.463 min; BMBP, 15.886 min; DCHP, 16.533 min; DEHP, 16.778 min; DphP, 19.151 min; DNP, 21.665 min.

图 1: 标准物质 Scan 模式下扫描出的 TIC 图



DMP, 7.363min; DEP, 8.233 min; DIBP, 9.871min; DBP, 10.570min; DMEP, 10.883 min; DMPP-1, 11.563min; DMPP-2, 11.599min; DEEP, 11.898min; DPP, 12.255 min; DHXP, 14.322 min; BBP, 14.463 min; BMBP, 15.887 min; DCHP, 16.534 min; DEHP, 16.781 min; DphP, 19.153 min; DNP, 21.668 min.

图 2: 标准物质 Sim 模式下扫描出的质谱图

从图 2 可以看出, 各被测成分分离良好, 峰形好, 响应值高, 能满足分析要求。

2.2 配制各被测组分的最低浓度, 检测得出其最低检出限, 标准曲线数据和最低检出限见表 1。

表 1: 标准曲线数据及最低检出限

化合物名称	标准曲线	R 值	最低检出限 (mg/L)
DMP	Y=521314X	0.9991	0.005
DEP	Y=580678X	0.9990	0.005
DIBP	Y=652841X	0.9988	0.005
DBP	Y=538860X	0.9990	0.005
DMEP	Y=237302X	0.9985	0.01
DMPP	Y=203862X	0.9995	0.01
DEEP	Y=215506X	0.9992	0.01
DPP	Y=486970X	0.9991	0.005
DHXP	Y=488622X	0.9992	0.005
BBP	Y=275009X	0.9987	0.005
BMBP	Y=166341X	0.9989	0.01
DCHP	Y=347028X	0.9994	0.005
DEHP	Y=308611X	0.9998	0.005
DNOP	Y=297407X	0.9985	0.005
DNP	Y=210183X	0.9990	0.005

表 1 显示各组分最低检出限低, 标准曲线各参数良好。

2.3 15 种塑化剂的特征离子、参考离子、精密度和回收率。

以 0.01mg/L, 0.5mg/L 两浓度进行加标回收试验, 每个加标样品进行 6 次测定, 计算精密度。回收率和精密度测定结果及各组分特征离子见表 2。

2.4 结果计算。

$$X = \frac{A_x \cdot C \cdot V}{A_s \cdot m}$$

X—被测组分的含量, mg/kg

V—样品制备定容体积

m—取样量, g

C—标准浓度, mg/L

A_x—样品峰面积

A_s—标准峰面积

2.5 实验条件的选择

图 1 显示, 在 Scan 模式下, 各目标组分分离良好, 峰形好, 响应高, 能满足分析要求。

2.1.2 定量

配制 15 种塑化剂的混合标准成 0.01 mg/L、0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.30 mg/L、0.50 mg/L 系列浓度, 标准图谱见下图 2。

表 2: 特征离子、回收率和精密度 (n=6)

化合物名称	特征离子	参考离子	回收率 (%)	精密度 (%)	
DMP	163	77	164	90.2 ~ 97.3	2.8
DEP	149	177	176	89.1 ~ 93.4	3.3
DIBP	149	57	223	88.7 ~ 97.3	1.9
DBP	149	150	223	90.8 ~ 95.5	4.5
DMEP	59	58	149	86.0 ~ 91.2	3.7
DMPP	149	85	167	83.6 ~ 90.9	2.9
DEEP	72	73	149	92.8 ~ 99.7	5.8
DPP	149	237	150	93.6 ~ 97.4	6.1
DHXP	149	251	150	87.4 ~ 96.5	3.6
BBP	149	91	206	93.8 ~ 98.3	4.3
BMBP	149	57	101	85.9 ~ 92.4	4.1
DCHP	149	167	55	87.6 ~ 94.7	3.2
DEHP	149	167	57	88.4 ~ 96.6	1.5
DNOP	149	279	150	92.7 ~ 99.2	2.2
DNP	149	293	150	93.5 ~ 97.7	2.7

2.5.1 样品提取

本文在前处理过程中直接用正己烷对白酒中的塑化剂进行提取, 离心后取正己烷进样分析, 不用净化过柱, 简化了前处理步骤, 减少了前处理过程带来的样品损失, 具有快速灵敏的特点; 过程中煮沸步骤可以赶走样品中的乙醇, 减少背景干扰, 又可以降低塑化剂在乙醇中的溶解, 提高萃取率; 超声可以进一步赶走残留的乙醇, 充分提取样品, 提高提取率和检出率。

2.5.2 条件优化

采用 Rxi-5ms (30m×0.32mmID×0.25 μm df) 色谱柱, 峰较对称, 半峰宽窄, 峰形较好; 在 GC 温度程序 (初始温度 60℃, 保持 1min, 以 20℃/min 升至 220℃, 保持 1min, 再以 25℃/min 升至 280℃, 保持 10min) 下, 各组分能实现良好的分离; 线速度流量控制模式更精确控制流速, 在线速度流量控制模式下, 保留时间偏差较小, 优于体积流速控制流量模式, 能呈现更好的稳定性和重现性。

3 结论

综上所述, 采用本方法检测白酒中邻苯二甲酸二甲酯等 15 种塑化剂具有快速、准确的特点, 前处理过程简单, 剪表性强, 直接提取实验结果显示各组分分离良好, 最低检出限、重现性、加标回收率、

(下转第 13 页)

表2: 术前、手术结束时、术后第1天纤溶指标的测量结果 ($\bar{x} \pm s$)

		FIB(g/L)	D-D(mg/L)
术前	腹腔镜组	2.79±0.41	0.18±0.05
	开腹组	2.84±0.62	0.15±0.07
手术结束	腹腔镜组	3.67±0.75*	0.33±0.15*
	开腹组	3.05±0.39*	0.22±0.12**
术后第1天	腹腔镜组	4.42±1.12*	0.41±0.14*
	开腹组	3.55±1.16**	0.29±0.09**

注: 与同组前一时间段相比较, * $P < 0.05$; 与腹腔镜组同一时间相比较, ** $P < 0.05$

3 讨论

近年来老龄化程度不断提高已是我国社会的一大特征。同时, 随着生活水平的提高, 直肠癌发病率不断上升, 老年直肠癌患者也不断增加。正常情况下, 机体依靠凝血与抗凝血机制, 保持动态平衡。引发机体高凝状态的机制是复杂的, 涉及多种可变因素的相互作用, 打破了促凝与抗凝之间的平衡。癌细胞可使机体血液成分发生改变, 完整的癌细胞和其脱落的膜泡均显示促凝活性, 并直接形成凝血酶, 促凝物质主要有组织因子(TF)和癌性促凝物质(CP)。肿瘤细胞诱发凝血酶生成引起高凝状态^[4]。肿瘤细胞可直接侵犯血管或通过分泌血管通透性因子而损伤内皮细胞。血液流变学的异常和留置导管也容易对血管内皮细胞产生损伤^[5]。同时, 老年患者由于循环系统功能退化、血流缓慢、血液容易存在高凝状态, 更要引起足够的重视。

D-Dimer 是重要的纤维蛋白原降解产物之一, D-Dimer 血浆中水平增高反映着继发性纤溶的增强, 在临床上已被认为是体内高凝状态和纤溶亢进的分子标志物之一^[6]。有报道指出, 恶性肿瘤患者的 D-Dimer 水平与肿瘤组织血管内皮生长因子(VEGF)表达有关, 而 VEGF 为最重要的促血管生成因子。D-Dimer 增加在一定程度上提示肿瘤血管生成活跃^[7]。研究发现手术或化疗后好转的恶性肿瘤患者, FIB 水平较治疗前明显下降; 复发转移的恶性肿瘤患者 FIB 水平再次升高^[8]。因此在评估疗效及预后等方面, 监测 FIB 的变化有一定的临床指导意义^[9]。

本研究中, 腹腔镜组和开腹组手术结束及术后第1天 APTT 及 INR 较术前虽无显著变化, 且手术结束时 PT 亦无明显变化。但是两组患者于手术结束及术后第1天 FIB、D-D 均显著升高, 且术后第1天 PT 均显著降低, 表明腹腔镜手术和开腹手术均可使机体处于高凝状态。与传统的开腹手术相比较, 腹腔镜手术的创伤小, 大多学者认为其术后血液高凝状态较开腹手术得以减轻。本研究中, 腹腔镜组手术结束时及术后第1天血液凝固性明显高于同时期开腹组。显示腹腔镜术后血液凝固性显著高于开腹手术。可能是由于腹腔镜手术使用 CO₂ 气腹,

虽然腹腔镜直肠癌手术头低足高位减小了下肢静脉的回流阻力^[10], 但腹压增高以及截石位双下肢外展压迫腘静脉使下肢血液回流受阻, 长时间后下肢静脉压力增加, 流速减慢, 损伤内皮细胞, 激活了血液凝固系统。使老年直肠癌患者血液处于高凝状态。同时, 亦可能与肿瘤血管生成活跃有关, 需待进一步临床研究证实。

综上所述, 高凝状态促进恶性肿瘤的发生、发展, 监测老年直肠癌患者凝血异常情况, 可使临床治疗更具有方向性与可控性, 以便于积极改善患者体内的高凝状态, 提高老年直肠癌患者生存率, 仍需临床及基础研究工作者对其进行不断探索、研究。

参考文献

- [1] Tan KY, Kawamura Y, Mizokami K, et al. Colorectal surgery in octogenarian patients—outcomes and predictors of morbidity [J]. Int J Colorectal Dis, 2009, 24(2): 185–189.
- [2] Volland C, Serre CM, Delms P. Platelet-osteosarcoma cell interaction is mediated through a specific fibrinogen-binding sequence located within the N-terminal domain of thrombospondin 1 [J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(3): 361–368.
- [3] Gouin-Thibault I, Samama MM. Laboratory diagnosis of the thrombo-philic state in cancer patients [J]. Semin Thromb Hemost, 1999, 25 (1): 167–172.
- [4] Cunningham MS, White B, O'Donnell J. Prevention and management of venous thromboembolism in people with cancer: a review of the evidence [J]. Clin Oncol, 2006, 18(2): 145–151.
- [5] Vladavsky I, Ulan N, Nadir Y, et al. Heparanase, heparin and the coagulation system in cancer progression [J]. Thromb Res, 2007, 120(Suppl 2): S112–120.
- [6] 张军, 万俊哲, 张伟. 心脏瓣膜置换术后血栓前体蛋白、D-二聚体在抗凝监测中的应用 [J]. 临床外科杂志, 2014, 22(9): 683–684.
- [7] 张平, 孙军伟, 卢久琴, 等. 非小细胞肺癌患者的基线 D-二聚体水平与预后的关系 [J]. 中华肿瘤杂志, 2013, 35(10): 747–750.
- [8] 林懿. 纤维蛋白原水平在恶性肿瘤诊治中的临床意义 [J]. 中国癌症杂志, 2004, 14(1): 521–522.
- [9] 刘秀巧. 恶性肿瘤与高纤维蛋白原血症 [J]. 中华肿瘤杂志, 2002, 24(1): 51–52.
- [10] Freyburger G, Dubreuil M, Audebert A, et al. Changes in haemostasis after laparoscopic surgery in gynaecology: contribution of the thrombin generation test [J]. Haemostasis, 2001, 31(1): 32–41.

(上接第11页)

RSD 均可达到实际要求, 适用于白酒中塑化剂成分的快速检测。

参考文献

- [1] 马燕红, 丁红艳, 马丽, 等. 邻苯二甲酸酯类化合物的定量结构-色谱保留关系 [J]. 食品科学, 2012, 33(24): 253–256.
- [2] Wimd VS, Lambright C, Fun J, et al. Phthalate ester-induced gubernacular lesions are associated with reduced in gene expression in the fetal rat testis [J]. Toxicol Lett, 2004, 146(3): 207–215.
- [3] 刘霞, 曾佳. 环境污染物邻苯二甲酸酯致男性生殖损害的研究进展 [J]. 癌变·畸变·突变, 2009, 21(4): 320–323.
- [4] 蔡红平, 肖雯, 朱静, 等. 邻苯二甲酸二乙基己基酯对大鼠睾丸细胞 DNA 损伤和睾丸组织氧化应激影响 [J]. 中国职业医学, 2011, 38(6): 458–462.
- [5] 崔月美, 叶建新. 邻苯二甲酸酯对小鼠雄性生殖系统的毒性作用 [J]. 大连医科大学报, 2009, 31(4): 260–263.

- [6] Pan G, Hanaoka T, Yoshimura M, et al. Decreased serum free testosterone in workers exposed to high levels of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP): a cross-sectional study in China [J]. Environ Health Perspect, 2006, 114(12): 1643–1648.
- [7] 王立鑫, 杨旭. 邻苯二甲酸酯毒性及健康效应研究进展 [J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(3): 276–280.
- [8] 陈洪涛, 王力清, 黄翠莉, 等. 邻苯二甲酸酯毒理学研究进展 [J]. 食品与机械, 2012, 28(5): 251–254.
- [9] Chen J, Liu Y. Determination of PAEs in PVC packing materials by GC/MS with accelerated solvent extraction [J]. Inspection Quarantine Sci, 2008, 18 (6): 45–47.
- [10] Li CY, Zhang XL, Rao J, et al. Selection and optimization of the measurement method of phthalate esters in liquor [J]. Liquor Mak Sci Technol, 2013, 2: 102–106.