

超声提取-气相色谱-质谱法测定肥料中邻苯二甲酸酯类增塑剂

赵雨薇, 马明, 马腾洲

(上海出入境检验检疫局, 上海 200135)

摘要:通过对肥料中8种邻苯二甲酸酯类增塑剂的超声波提取方法、色谱及质谱条件进行优化,建立了超声提取-气相色谱-质谱法测定肥料中8种邻苯二甲酸酯类增塑剂的检测方法。结果表明,目标物在线性范围内线性关系良好,加标回收率为76.8%~102.6%,测定值的相对标准偏差($n=6$)为2.1%~9.6%。利用该方法研究了多种肥料中邻苯二甲酸酯含量的分布情况,并对其来源进行了探讨。

关键词:肥料;邻苯二甲酸酯;超声提取;气相色谱-质谱法

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2016)06-0187-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2016.06.046

Determination of phthalic acid esters and their distributions in fertilizer by gas chromatography-mass spectrometry

ZHAO Yu-wei, MA Ming, MA Teng-zhou

(Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China)

Abstract: A gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method combined with ultrasonic extraction technique is developed for determination of 8 kinds of phthalic acid esters (PAEs) in fertilizer by optimizing ultrasonic extraction method, gas chromatographic and MS conditions. The calibration curves of 8 PAEs have excellent linearity. The recovery rate of standard addition are in the ranges of 76.8% - 102.6%. The standard deviation ($n=6$) is 2.1% - 9.6%. This test method is applied to investigate the PAEs distribution in fertilizer. The source of PAEs in fertilizer is also discussed in detail.

Key words: fertilizer; phthalic acid esters; ultrasonic extraction; gas chromatography-mass spectrometry

肥料作为一种重要的农用生产资料,其安全性直接影响着农产品的安全^[1]。据报道^[2-4],蔬菜可以通过根系吸收运移来吸收累积肥料中的邻苯二甲酸酯(PAEs)。邻苯二甲酸酯是一种增塑剂,广泛应用于塑料包装袋、大棚覆膜、农田地膜等农业生产中。邻苯二甲酸酯一旦进入体内会干扰动物和人体正常的内分泌功能,发挥着类似雌性激素的作用,长期积累会导致畸形、癌变和致突变^[5]。肥料在生产加工过程中,因大量接触塑料制品而增加了引入邻苯二甲酸酯类增塑剂的风险。因此,有必要针对肥料建立邻苯二甲酸酯类增塑剂的检测方法。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

(7890A)气相色谱-(5975C)质谱仪,美国Agilent公司生产;氮吹仪,日本Eyela公司生产;超声波发生器,德国Elma公司生产;PSA固相萃取小柱,北京Dikma生产。

邻苯二甲酸二甲酯(DMP),纯度 $\geq 99\%$;邻苯

二甲酸二乙酯(DEP),纯度 $\geq 99\%$;邻苯二甲酸二丁酯(DBP),纯度 $\geq 99\%$;邻苯二甲酸丁基苄酯(BBP),纯度 $\geq 98\%$;邻苯二甲酸二(2-乙基)己基酯(DEHP),纯度 $\geq 99\%$;邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP),纯度 $\geq 98\%$;邻苯二甲酸二异壬酯(DINP),纯度 $\geq 99\%$;邻苯二甲酸二异癸酯(DIDP),纯度 $\geq 99\%$;正己烷、二氯甲烷,色谱纯;所选试剂应排除邻苯二甲酸酯类增塑剂的干扰。

邻苯二甲酸酯标准储备溶液:分别准确称取适量的邻苯二甲酸酯,用正己烷配制标准储备溶液。其中,DMP、DEP、DBP、BBP、DEHP、DNOP质量浓度均为1 mg/mL,DINP、DIDP质量浓度均为5 mg/mL。使用时用正己烷稀释至所需质量浓度的标准工作溶液。

1.2 仪器工作条件

1.2.1 色谱条件

色谱柱:HP-5 ms,30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m;载气:氦气;色谱柱箱升温程序:初始温度为40 $^{\circ}$ C,保持2 min,然后以15 $^{\circ}$ C/min的速率升至325 $^{\circ}$ C,保

持 10 min;进样口温度:250℃;进样方式:30 psi 脉冲不分流。

1.2.2 质谱条件

色谱-质谱接口温度:280℃;四级杆温度:150℃;载气:氦气,纯度 $\geq 99.999\%$;电离方式:电子轰击电离(EI);电离能量:70 eV;质量扫描范围:50~450 amu;溶剂延迟:4 min。选择离子监测(SIM)的定量扫描离子见表 1。

表 1 8 种邻苯二甲酸酯类化合物的定量及特征离子

化合物	分子式	定性离子及丰度比 m/z	定量离子 m/z
邻苯二甲酸二甲酯(DMP)	$C_{10}H_{10}O_4$	163:77:135 = 100:18:7	163
邻苯二甲酸二乙酯(DEP)	$C_{12}H_{14}O_4$	149:177:121 = 100:28:6	149
邻苯二甲酸二丁酯(DBP)	$C_{16}H_{22}O_4$	149:223:205 = 100:5:4	149
邻苯二甲酸丁基苄酯(BBP)	$C_{19}H_{20}O_4$	149:206:238 = 100:23:3	149
邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)	$C_{24}H_{38}O_4$	149:167:279 = 100:29:10	149
邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)	$C_{24}H_{38}O_4$	149:279:261 = 100:7:1	279
邻苯二甲酸二异壬酯(DINP)	$C_{26}H_{42}O_4$	149:293:167 = 100:9:6	293
邻苯二甲酸二异癸酯(DIDP)	$C_{28}H_{46}O_4$	149:307:150 = 100:16:10	307

1.3 样品预处理

称取经粉碎的肥料试样 0.5 g(精确至 0.000 1 g)于玻璃具塞离心管中,加入 10 mL 正己烷-二氯甲烷(体积比为 5:1)混合液并加塞密封,在 50℃ 下超声提取 30 min 后冷却,并以不低于 3 000 r/min 离心 5 min,移取上清液至另一玻璃试管中。残渣中加入 10 mL 正己烷-二氯甲烷(体积比为 5:1)混合液,按上述方法再提取 1 次,合并上清液于同一玻璃试管中。在 40℃ 下用氮气将溶液吹至 1 mL 以下,用正己烷定容至 1.0 mL 后作为待测液。若氮吹过程沉淀析出,应过滤沉淀物后再氮吹定容。

2 结果与讨论

2.1 影响邻苯二甲酸酯提取效果的因素

2.1.1 提取溶剂

分别考察甲醇、正己烷、二氯甲烷、正己烷-二氯甲烷(体积比为 5:1)的混合液对肥料中邻苯二甲酸酯类增塑剂的提取效果,结果如表 2 所示。选取

阳性样品(以 DEHP、DBP、DINP、DIDP 为目标物),准确称量 0.5 g 样品 4 份(精确至 0.000 1 g),用同等体积不同溶剂在室温下超声提取 30 min,结果发现,4 种溶剂中,甲醇的提取效率最低,正己烷次之,二氯甲烷、正己烷-二氯甲烷(体积比为 5:1)的提取效果较好,且差异不大。

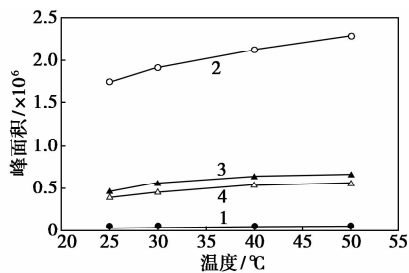
表 2 不同提取溶剂对样品中邻苯二甲酸酯提取效果(峰面积)的影响

	甲醇	正己烷	二氯甲烷	正己烷:二氯甲烷(5:1)
DBP	44567	83342	113487	121764
DEHP	193129	435825	517966	554445
DINP	122092	189632	253146	233475
DIDP	90321	227892	315648	337306

实际肥料样品中常常夹杂塑料成分,因此在肥料中加入 PVC 塑料模拟实际样品,再用二氯甲烷、正己烷-二氯甲烷(体积比为 5:1)进行提取试验。结果发现,二氯甲烷可将 PVC 成分的塑料完全溶解,但在后续氮吹浓缩过程中,溶解在二氯甲烷中的 PVC 会凝聚析出,将目标物包裹,导致提取效率大大降低。而选用正己烷-二氯甲烷(体积比为 5:1)混合液中,二氯甲烷作为辅助提取剂能使 PVC 快速的溶胀但不溶解,有效地提取出目标物,提取效果较好。因此,选取提取剂为正己烷-二氯甲烷(体积比为 5:1)。

2.1.2 提取温度

选取某阳性样品,准确称量 0.5 g 样品 4 份,用 10 mL 正己烷-二氯甲烷(体积比为 5:1)溶剂超声提取 30 min,分别考察了在 25、30、40、50℃ 条件下提取目标物的峰面积,结果如图 1 所示。由于二氯甲烷沸点为 39.8℃,而正己烷沸点为 69℃,因此,最高考察提取温度为 50℃。结果表明,随着提取温度的增加,目标物的峰响应面积也会随着增加,选取的提取温度为 50℃。



1—DBP;2—DEHP;3—DINP;4—DIDP

图 1 提取温度与峰面积(提取量)关系

2.1.3 提取时间

称取 0.5 g 肥料样品若干份,以正己烷-二氯甲

烷(体积比为5:1)混合液为提取液,考察提取时间(10~45 min)对肥料中邻苯二甲酸酯提取效率的影响。超声时间为10~30 min时,提取效率随着时间的增加而提高,随着时间的进一步延长,提取效率反而有所下降,这是由于超声产生的局部高温使目标物挥发。因此,选择提取时间为30 min。

2.1.4 提取次数

称取0.5 g肥料样品,加入10 mL正己烷-二氯甲烷(体积比为5:1)混合液,50℃下超声提取30 min,将提取液倒出。然后,第2次加入10 mL提取液提取,50℃下再次超声提取30 min后,将提取液倒出。根据上述方法提取第3次。3次提取液分别进样进行分析,结果如表3所示。由表3可以看出,第1次、第2次提取液均含有目标物,但第2次提取物峰面积远低于第1次峰面积,而第3次提取液目标物峰仅占3次目标物峰面积总和的1%左右。因此,可确定在此提取条件下,提取2次可将样品中目标物基本完全提取。

表3 提取次数与提取量(峰面积)的关系

	DBP	DEHP	DINP	DIDP
第1次	5879	193977	57606	51461
第2次	1980	25246	5226	4147
第3次	341	4618	1201	935

2.1.5 浓缩

选择温和的氮气流速吹扫,并以40℃温度加热氮吹管,加标溶液浓缩。分别考察3种方式下的回收率:①将溶液完全吹干后,以正己烷定容至1.0 mL进样;②将溶液吹至近干,以正己烷定容至1.0 mL进样;③将溶液吹扫浓缩至1 mL液面以下,以正己烷定容至1.0 mL进样。结果表明,除DMP、DEP外,其他增塑剂的回收率无明显差别。但是,DMP、DEP的回收率随着氮吹程度的变化而变化,剩余溶液越少,回收率越低,如表4所示。这是由于DMP、DEP较容易挥发,尤其是当溶剂近干时,氮吹更易引起其大量挥发;而当其溶解于溶液时,挥发损失很少。因此,选择氮吹至1 mL下,用正己烷定容至1.0 mL。

表4 氮吹程度对回收率的影响 %

PAEs	回收率		
	完全吹干	吹至近干	吹至近1 mL
DMP	31.4	55.2	95.5
DEP	27.6	50.9	97.3

对于实际肥料提取液,在其浓缩过程中会出现

沉淀物析出,导致定容体积不准。因此,当浓缩至1 mL左右时,如有沉淀物析出,则将上清液移至另一玻璃管中,以正己烷淋洗沉淀物并合并溶液,再氮吹并定容至1.0 mL后进样。

2.2 色谱条件的选择

除1.2所述的色谱条件外,对进样方式进行了优化,旨在进一步提高增塑剂在GC-MS上的灵敏度,特别是DINP及DIDP 2个五指峰。由于DIDP与DINP为2个交叉的五指峰,峰形较宽,而且由于沸点相对其他邻苯二甲酸酯要高,出峰晚,扩散较为严重,这会降低其灵敏度。比较了同等浓度的邻苯二甲酸酯溶液在常规不分流进样和脉冲不分流进样条件下的响应值,结果表明,脉冲不分流进样会明显提高其灵敏度,峰形也更窄。这是因为通过脉冲进样,增加了样品的进样速度,从而降低了样品特别是高沸点样品的谱带扩散效应。

2.3 质谱条件

标准样品全扫描质谱图如图2所示。上述8种增塑剂质谱特征离子及定量离子如表1所示。

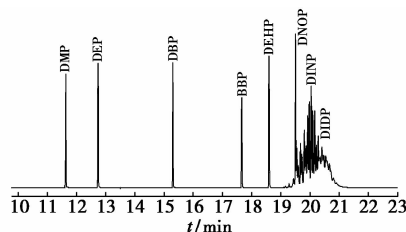


图2 8种邻苯二甲酸酯标准物的GC-MS总离子流色谱图

由于离子源对优化化合物特别是高沸点化合物及峰扩散性化合物的峰形及灵敏度有所帮助,笔者对离子源温度进行了进一步优化,考察了230、250、280℃ 3种离子源温度对8种增塑剂的色谱峰的影响,结果发现,温度越高,增塑剂特别是DIDP、DINP的峰宽变窄,峰高变高,能提高灵敏度。这是因为离子源温度提高有利于提高离子化效率及离子化速度。因此,选择离子源温度为280℃。

2.4 方法的线性关系和检出限

选择不含目标化合物的样品为空白基质,添加DMP、DEP、DBP、BBP、DEHP、DNOP、DINP、DIDP,以信噪比(S/N)为3确定各目标化合物的检出限:DMP、DEP、DBP、BBP、DEHP、DNOP方法检出限为0.02 mg/kg, DINP、DIDP方法检出限为0.1 mg/kg;以信噪比(S/N)为10确定各目标化合物的检出限:DMP、DEP、DBP、BBP、DEHP、DNOP方法定量限为

0.05 mg/kg, DINP、DIDP 方法检出限为 0.3 mg/kg。采用外标法定量分别配制一系列标准工作溶液,在选定的色谱和质谱条件下进行测定,线性方程、相关系数及线性范围如表 5 所示。

表 5 8 种塑化剂的回归方程及相关系数

物质名称	回归方程	相关系数 r^2	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
DMP	$y = 364425.33x - 9309.91$	0.9999	0.01 ~ 1
DEP	$y = 250619.69x - 2505.47$	0.9999	0.01 ~ 1
DBP	$y = 324256.31x - 8602.53$	0.9993	0.01 ~ 1
BBP	$y = 132543.30x - 5375.17$	0.9993	0.01 ~ 1
DEHP	$y = 200374.62x - 9431.90$	0.9992	0.01 ~ 1
DNOP	$y = 27840.82x - 1616.84$	0.9991	0.01 ~ 1
DINP	$y = 471966.93x - 14489.91$	0.9989	0.05 ~ 5
DIDP	$y = 445194.94x - 16331.63$	0.9998	0.05 ~ 5

2.5 方法的回收率和精密度

利用空白肥料样品分别进行添加回收率和精密度实验,样品添加不同质量分数的标准溶液进行实验。在 0.5、1.0 mg/kg 和 2.5 mg/kg 质量分数水平范围内的平均回收率(每个添加浓度平行测定 6 次)为 76.8% ~ 102.6%,相对标准偏差为 2.1% ~ 9.6%,结果如表 6 所示。

表 6 肥料样品中邻苯二甲酸酯回收率和精密度实验结果
($n=6$)

化合物	加标质量分数为 0.5 mg/kg		加标质量分数为 1.0 mg/kg		加标质量分数为 2.5 mg/kg	
	平均回 收率/%	RSD/ %	平均回 收率/%	RSD/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
DMP	82.5	6.8	86.7	6.1	89.3	4.1
DEP	85.9	7.2	90.2	5.8	92.3	5.3
DBP	77.3	5.9	87.8	6.3	86.4	3.8
BBP	79.1	6.1	80.5	4.5	87.3	5.7
DEHP	88.2	4.8	87.0	3.2	102.6	3.1
DNOP	76.8	9.6	85.0	5.6	95.0	5.5
DINP	85.5	4.9	89.8	4.0	86.7	4.7
DIDP	78.3	4.7	89.3	2.1	88.2	3.9

2.6 肥料中增塑剂的分布情况

对市面上采购的 52 种肥料包括有机肥、无机肥、复合肥、缓释肥等进行了测试。52 种肥料中 19 种可检出 DBP、DEHP,其中 1 种有机肥中检出了 DINP 和 DIDP,1 种有机肥中检出了 BBP,结果如表 7 所示。由表 7 中可以看出:①在 8 种增塑剂中,DEHP 为检出频次最高的邻苯二甲酸酯;②无机肥中的邻苯二甲酸酯的质量分数通常较低,且种类较为单一,检出率为 23%;③有机肥、复合肥中增塑剂

质量分数相较于无机肥明显增高,且常常含有 2 种以上的增塑剂,有机肥、复合肥、缓释肥的检出率分别为 53%、29%、50%。

表 7 肥料样品中 8 种邻苯二甲酸酯的质量分数

样品	$w/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$				
	DBP	BBP	DEHP	DINP	DIDP
1-有机肥	0.05	—	2.05	3.52	7.11
4-矿肥 24 号	—	—	0.15	—	—
5-矿肥 15 号	—	—	0.15	—	—
6-矿肥 7 号	—	—	0.1	—	—
7-腐植全钾肥	—	—	0.11	—	—
9-竹炭生物肥	—	—	0.14	—	—
11-自然果肥	—	—	0.18	—	—
12-脲醛缓释肥	0.45	—	2.61	—	—
13-硫包衣缓释肥	0.11	—	0.49	—	—
14-钙镁钾肥	0.080	—	—	—	—
15-竹炭生物有机肥	0.154	0.371	0.190	—	—
16-复混肥料	0.148	—	0.034	—	—
22-有机肥	0.195	—	—	—	—
36-缓释肥	0.210	—	0.116	—	—
37-复合肥	0.404	—	0.098	—	—
38-有机肥	0.208	—	0.346	—	—
41-有机肥	0.418	—	0.812	—	—
49-矿肥	0.036	—	—	—	—
52-有机肥	0.310	—	0.150	—	—

3 结论

建立了超声提取-气相色谱-质谱法测定肥料中 8 种邻苯二甲酸酯类增塑剂的方法。结果表明,该方法适用于无机肥、有机肥、复合肥、缓释肥等肥料中 8 种邻苯二甲酸酯的检测, DMP、DEP、DBP、BBP、DEHP、DNOP 方法检出限为 0.02 mg/kg, DINP、DIDP 方法检出限为 0.1 mg/kg,加标回收率为 76.8% ~ 102.6%,相对标准偏差($n=6$)为 2.1 ~ 9.6%,可应用于肥料中 PAEs 的实际检测。同时,研究了不同肥料中邻苯二甲酸酯质量分数的分布情况,并分析了污染来源,为肥料安全监管提供了数据支持。

参考文献

- [1] 蔡全英,莫测辉,朱夕珍,等.城市污泥和化肥对水稻土种植的通菜中邻苯二甲酸酯(PAEs)的影响[J].应用生态学报,2003,14(11):2001-2005.
- [2] 曾云巧,莫测辉,蔡全英,等.萝卜对邻苯二甲酸酯(PAEs)吸收累积特征及途径的初步研究[J].环境科学学报,2006,26(1):10-16.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

气相色谱-热能分析联用仪,美国 Thermo Electron 公司生产,色谱柱为弹性毛细管柱(30 m × 0.53 mm × 1 μm),固定相为 50% 甲基-50% 苯基聚硅氧烷;保护柱为弹性石英毛细管柱(1 m × 0.53 mm),经脱活处理;分析天平,感量为 0.000 1 g,瑞士 Mettler Toledo 公司生产。

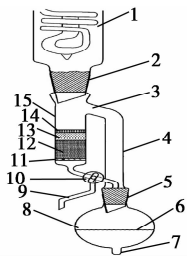
电子烟烟油购于淘宝网;氯仿、丙酮,色谱纯,购于美国 sigma 公司;无水硫酸钠、碱性氧化铝(200 目 ~ 300 目),分析纯,均购于上海国药集团化学试剂有限责任公司;亚硝酸标准品和内标 *N*-戊基-(3-甲基吡啶基)亚硝酸、NNN、NAT、NAB、NNK,纯品(纯度大于 97%),购于百灵威化学试剂公司。

1.2 标准工作溶液

配制 TSNA 标准系列工作溶液,以氯仿为溶剂,内标 *N*-戊基-(3-甲基吡啶基)亚硝酸的质量浓度均为 200 ng/mL;NNN、NAT、NNK 的质量浓度为 10、20、50、100、200、500、1 000、1 500 ng/mL;NAB 质量浓度为 5、10、20、50、100、200、500、1 000 ng/mL。

1.3 带柱层析功能的索氏提取装置

带柱层析功能的索氏提取装置由回流冷凝管、提取器和圆底烧瓶 3 部分组成,如图 1 所示。



- 1—回流冷凝管;2—磨口;3—提取器;4—溶剂汽流管;
5—磨口;6—溶剂;7—尾管;8—烧瓶(250 mL);
9—溶剂回收口;10—三通阀;11—筛板;12—碱性氧化铝;
13—样品;14—无水硫酸钠;15—填料管

图 1 新样品前处理装置的结构图

1.4 仪器条件

采用文献[7]中规定的色谱条件,具体参数如下:程序升温:初始温度为 150℃,保持 2 min;以 3℃/min 速率升至 230℃,20℃/min 速率升至 260℃,保持 20 min;进样口温度为 230℃;载气为氦气,恒流 10 mL/min 进样量为 2 μL;不分流,不分流时间为 1 min;吹扫流量为 50 mL/min;热裂解温度为 550℃;接口温度为 250℃。

TEA 参数采用 model 543:裂解温度为 500℃,接口温度为 250℃。

在该仪器条件下标样和电子烟烟油样品色谱图如图 2 所示。

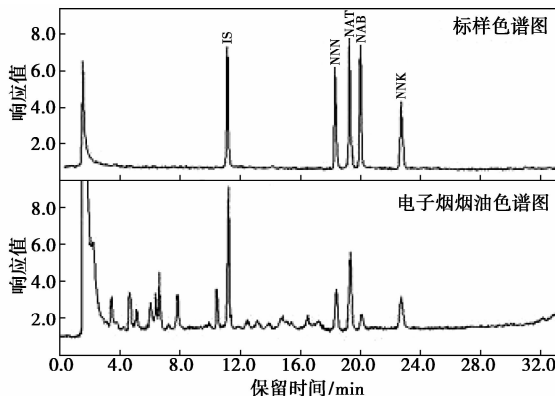


图 2 标样和电子烟烟油样品色谱图

1.5 样品前处理及检测

准确称取电子烟烟油样品 10 g,然后加入 15.0 g 的碱性氧化铝和电子烟烟油充分研磨均匀,并在烘箱中烘干。

在索氏提取装置中加入 20 g 氧化铝层,然后将附着了电子烟烟油的碱性氧化铝加到索氏提取器中,再在上面铺 5.0 g 无水硫酸钠。装好样品后,在烧瓶中加入 100 mL *V*(丙酮):*V*(氯仿) = 2:8 的混合溶剂,然后将上述样品前处理装置放入水浴锅中于 75℃ 加热回流 45 min 提取样品。样品提取完后,打开三通阀,让溶剂从溶剂回收口流出,浓缩样品并回收溶剂,当浓缩到约 1.0 mL 时停止加热,取出样品,用 0.45 μm 的针头过滤器过滤,即可供分析用。

邻苯二甲酸酯[J]. 色谱,2011,29(6):563-566.

- [3] 莫测辉,李云辉,蔡全英,等. 农用肥料中有机污染物的初步检测[J]. 环境科学,2005,26(3):198-202.
- [4] 董夫银,闫杰. 欧盟及美国禁用邻苯二甲酸酯的法规及其出台始末[J]. 检验检疫科学,2006,16(3):78-80.
- [5] 何丽芝,陆扣萍,秦华,等. 我国设施菜地邻苯二甲酸酯污染现状及防治研究进展[J]. 安徽农业科学,2012,40(28):13973-13975,14063.
- [6] 李红,田福林,任雪冬,等. 气相色谱-串联质谱法测定土壤中的
- [7] 张小辉,王晓雁. 气相色谱-质谱联用法测定土壤中邻苯二甲酸酯类增塑剂[J]. 岩矿测试,2010,29(5):531-534.
- [8] 曹分文,马军,李云木子,等. 索氏提取-液相色谱法测定土壤中邻苯二甲酸酯类物质[J]. 地质学刊,2011,35(1):73-77.
- [9] 赵琳. 气相色谱法-质谱联用技术测定食品中邻苯二甲酸酯类的研究[D]. 河南:河南大学药物分析学,2013.
- [10] 李茜. 复杂样品中酞酸酯类化合物分析的样品前处理技术研究[D]. 武汉:华中师范大学,2009. ■

(上接第 190 页)