Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

风起“云”涌

——沃特世18种邻苯二甲酸盐UPLC/MS/MS分析解决方案

近日，台湾媒体报道了起云剂遭受增塑剂污染的事件，导致食品安全检测市场顿时风起“云”涌，邻苯二甲酸盐的检测再度成为人们关注的焦点。

起云剂（又名浑浊剂、乳浊剂、增浊剂）也就是我们常说的乳化稳定剂。主要应用于饮料和奶类制品。在饮料中使用，有助于释放与保留果汁饮料的香气，包埋果汁饮料的异味、杂味，也能增强果汁饮料口感的润滑性、厚实感，尤其是有效改良果汁饮料的天然感观，显著提高果汁饮料的品质质量。起云剂的主要成分为风味油、单体香油、增重剂、乳化稳定剂、乳化剂、水，它本身对人体并没有危害，本次事件的发生是由于少数起云剂生产厂家为降低成本使用在食品中禁用的增塑剂类物质邻苯二甲酸盐代替原本应该使用的棕榈油，从而引发了食品安全事件。

确保食品添加剂或者食品本身是否含有邻苯二甲酸盐类物质的一个途径就是使用分析手段对其进行检测。

我们常说的邻苯二甲酸盐是一类结构比较相似的化合物，在2011年6月，中国卫生部将17种邻苯二甲酸盐类物质列入《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂名单(第六批)》名单，如下:
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)、
邻苯二甲酸二异壬酯(DINP)、
邻苯二甲酸二苯酯(DPP)、
邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、
邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、
邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、
邻苯二甲酸二戊酯(DPP)、
邻苯二甲酸二己酯(DHXP)、
邻苯二甲酸二壬酯(DNP)、
邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)、
邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)、
邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)、
邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)、
邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯(DMEP)、
邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(DEEP)、
邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯(DBEP)、
邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(BMPP)

本方法介绍了两种基于沃特世超高效液相色谱技术（UPLC技术）分析18种（含台湾FDA要求）邻苯二甲酸盐的方法，方法一为采用沃特世超高效液相色谱质谱联用技术（UPLC/MS/MS），该方法具有分析速度快，灵敏度高的特点。适用于实验室拥有质谱系统并追求检测灵敏度的用户。方法二为采用沃特世超高效液相色谱系统和二极管阵列检测器（UPLC/PDA）分析方法，适用于暂时还不具有质谱系统的用户。

样品提取(台湾FDA方法)：
取混匀后样品1g，精确称量，置于50ml容量瓶，加入约45ml甲醇，超声波震荡30min，冷却后用MeOH定容到50ml。静置后，取上部溶液约5ml置于离心管中，于 3500rpm离心10min，取上清液装瓶,待测。对于基质比较复杂的样品，对于提取后的样品可以采用进一步的固相萃取净化手段。成畸胎、癌症的危险。

方法一：UPLC/MS/MS方法
实验条件

A. UPLC条件:

LC系统: ACQUITY UPLC H Class系统
色谱柱: ACQUITY UPLC HSS C_{18},1.7μm,2.1X100mm,
流动相A: 0.1%FA水溶液
流动相B: 乙腈
流速: 0.4ml/min
梯度洗脱: 梯度表

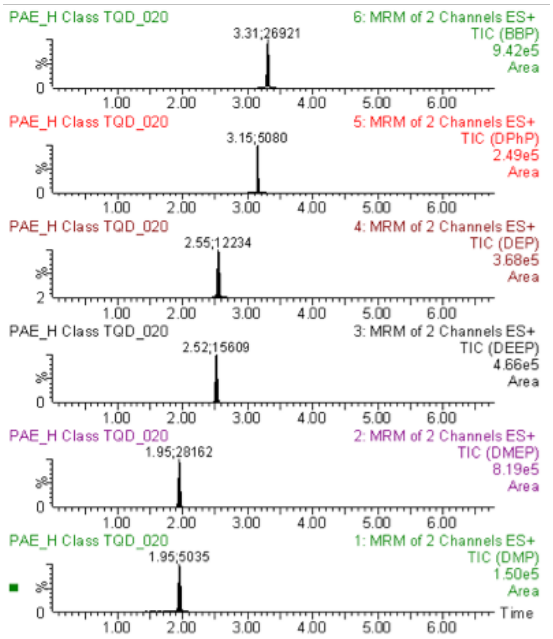
时间(分)	流速(ml/min)	%A	%B	曲线
0.00	0.40	65	35	*
1.50	0.40	25	75	6
2.00	0.40	0	100	6
6.20	0.40	0	100	6
7.50	0.40	65	35	1

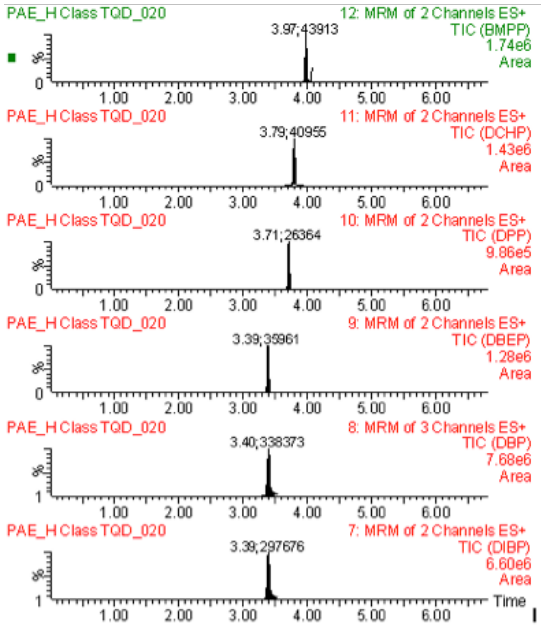
进样体积: 10μL

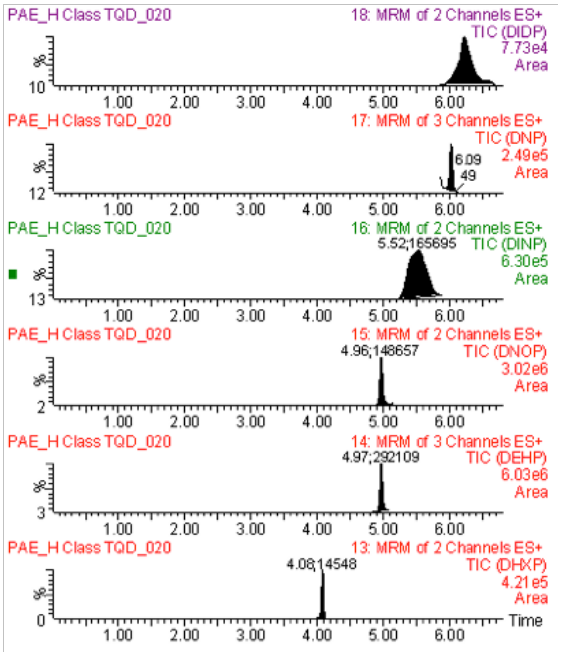
柱温: 35°C,
样品温度: 10°C
强洗溶剂: ACN
弱洗溶剂: H_2O :ACN= 95:5
运行时间: 7.5分钟

B. MS条件:

系统: ACQUITY UPLC TQD
离子化模式: ESI+
电离电压: 3.2KV
离子源温度: 120°C
脱溶剂气温度: 400°C
脱溶剂气流量: 650L/Hr







18种邻苯二甲酸盐分析结果(浓度: 10ppb) (DMP、DMEP、DEEP、DEP、DPhP、DEHP、BBP、DIBP、DBP、DBEP、DPP、DCHP、BMPP、DHXP、DNOP、DINP、DNP、DIDP)。

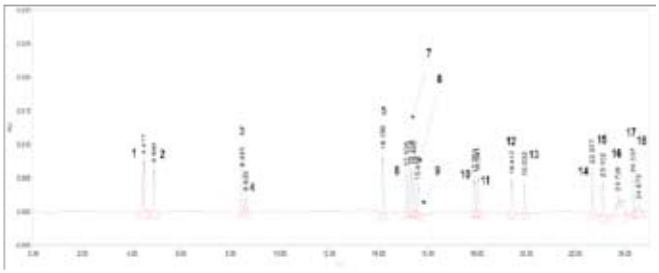
部分MRM通道:

No.	Compound	Chan Reaction	Cone Volt.	CE
1	DMP	195.03 > 77.07	15	28
		195.03 > 163.10	15	12
2	DMEP	283.16 > 59.12	18	14
		283.16 > 207.11	18	8
3	DEEP	311.16 > 45.09	22	30
		311.16 > 73.09	22	14
4	DEP	223.10 > 149.03	18	18
		223.10 > 177.06	18	8
5	DPHP	319.16 > 77.06	20	30
		319.16 > 225.11	20	12
.....				
18	DIDP	447.46 > 71.08	24	20
		447.46 > 85.12	24	18

方法二: UPLC/PDA方法

A.UPLC/PDA 条件

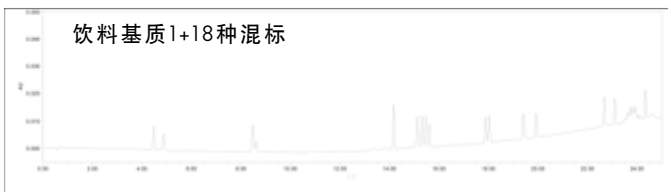
仪器系统: Waters UPLC H-Class/PDA
色谱柱: ACQUITY UPLC HSS C18 (1.7um, 2.1 100mm)
波 长: 225nm
柱 温: 45°C
流 速: 0.4mL/min
流动相: A-水, B-乙腈, 进行梯度洗脱

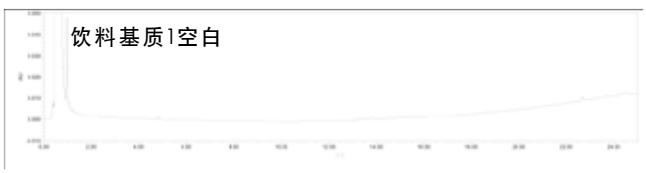


18种邻苯二甲酸盐色谱分析结果如下图所示

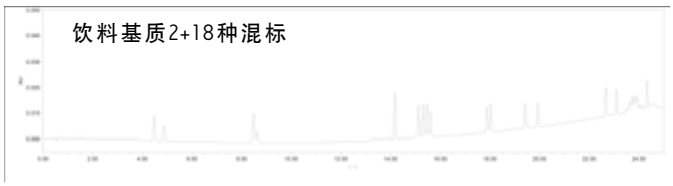
保留时间 (min)	中文名称	英文名称	峰序列
4.482	邻苯二甲酸二甲酯	DMP	1
4.896	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	DMEP	2
8.483	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	3
8.622	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	DEEP	4
14.176	邻苯二甲酸二(2-丙基庚)酯	DPHP	5
15.137	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	6
15.311	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP	7
15.464	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	8
15.616	邻苯二甲酸二-(3-丁氧基)乙酯	DBEP	9
17.894	邻苯二甲酸二戊酯	DPP	10
18.013	邻苯二甲酸二环己酯	DCHP	11
19.416	邻苯二甲酸二(4-甲基-2戊基)酯	DMPP	12
19.929	邻苯二甲酸二己酯	DHXP	13
22.644	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	DEHP	14
23.103	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP	15
23.727	邻苯二甲酸二异壬酯	DINP	16
24.335	邻苯二甲酸二壬酯	DNP	17
24.570	邻苯二甲酸二异癸酯	DIDP	18

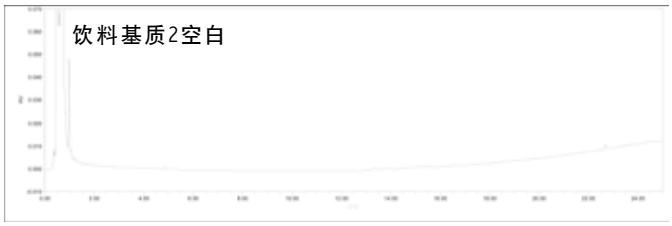
饮料基质1加标与空白结果





饮料基质**2**加标与空白结果





关于Waters ACQUITY UPLC H-Class

HPLC的操作方法，UPLC的卓越性能

如果您正在进行常规分析，或方法开发，或仅仅是喜欢四元泵系统多溶剂的灵活使用，而又渴望获得UPLC技术带来的快速、高灵敏度、高分离度的性能，那么沃特世公司ACQUITY UPLC H-Class系统是您目前唯一的选择。ACQUITY UPLC H-Class系统是一套经过优化的先进系统，具有四元溶剂混合的灵活性和简易性，并带有一个流通式进样器，可实现UPLC分离的先进性能——高分离度、灵敏度和高通量，同时还保持了ACQUITY系统所被公认的耐用性和可靠性。

选择ACQUITY UPLC H-Class，您可以在面向未来的LC平台上继续运行现有的HPLC方法，并可实现向UPLC分离的无缝转换。当您一切准备就绪后，即可使用集成系统工具和可靠的色谱柱工具包进行方法转换和方法开发，以简化过渡流程。

特色

多溶剂混合：QSM可将四种溶剂按任何组合或比例混合。使用选配的内部溶剂选择阀，将可选溶剂扩展到多达九种，方法更加灵活。

直接注射取样：SM-FTN的针流入路径采用专门的技术，在高压力下能够保证精确的进样针密封性，可实现高精度注射，具有极佳的样品回收率。

下一代色谱柱温箱：我们的新式UPLC色谱柱加热器和管理器已实现了标准化，具有易于操作、体积小的主

动式溶剂预加热器，使系统之间具有相同的效率。色谱柱预热器保证了稳定的热效能；色谱柱管理器提供了多区域的灵活性，温度范围为4至90 °C，并可叠加使用。

受控的滞留体积：ACQUITY UPLC H-Class的SmartStart技术（专利待批）可同时对梯度起始时间和各个预注射步骤进行自动管理。通过将这些典型的连续过程叠加起来，能够最大程度地缩短循环时间。

关于Waters ACQUITY UPLC TQD

沃特世TQ检测器是为一体化的UPLC®/MS/MS定量分析而开发的仪器，达到串联四极杆MS的最佳选择性、稳定性、速度及准确性。为契合UltraPerformance LC®(UPLC)的超高性能，TQ检测器以最快的速度采集数据。与ACQUITY UPLC®系统一同使用，ACQUITY® TQD 系统为用户所有的定量分析提供领先的分析检测限分辨率及样品通量，应用范围包括：生物分析、ADME筛选、食品安全、环境监测、临床学、法医学等。

特色

- 自动化的系统检查，用户界面简单友好，使用方便，优化的MS/MS检测，满足最苛刻的定量分析需求
- 数据采集速度快，色谱峰面积测量方面的准确性、重现性好
- 可靠耐用的ZSpray™大气压离子源，ESI、APCI、ESCi、APPI、ASAP等各种离子源模式可选
- 工业级领先的多模式检测能力,一次运行时，可同时进行多模式的采集
- 自动化的仪器优化与定量方法开发工具，精巧的应用软件工具包，适合用户的特定分析要求。
- 快速的数据采集能力，（采用T-Wave™碰撞池技术、多模式离子化技术、极性快速转换技术）

欲了解邻苯二甲酸盐分析方法的更多信息，

请拨打800(400)-820-2676

或邮件至qi_cai@waters.com