

文章编号: 1004-7964(2011)01-0068-04

高效液相色谱法测定皮革中富马酸二甲酯

黄 瓚¹, 王名宫^{1, 2*}, 刘丽珍¹

(1. 福建省晋江市产品质量监督检验所, 福建晋江 362200; 2. 厦门大学化学化工学院, 福建厦门 361005)

摘要: 本文建立了采用二氯甲烷超声波萃取, 中性氧化铝脱脂净化, 无水硫酸钠脱水, 低温浓缩定容, 最后采用高效液相色谱法对皮革样品中富马酸二甲酯进行定性定量的检测方法。该方法测定低限为 0.06 mg/kg, 在 0.1 ~ 5 mg/kg 的添加水平范围内, 富马酸二甲酯的回收率为 63.9% ~ 92.4%, 相对标准偏差为 1.08% ~ 1.63%。该方法简单快捷, 能够满足皮革样品中富马酸二甲酯的检测要求。

关键词: 富马酸二甲酯; 高效液相色谱; 皮革

中图分类号: TS 57

文献标识码: A

Determination of Dimethyl Fumarate in Leather by High Performance Liquid Chromatography

HUNG Zan¹, WANG Ming-gong^{1, 2*}, LIU Li-zhen¹

(Jinjiang City Productivity Supervision & Inspection Institute, Jinjiang 362200, China)

Abstract: The determination method of dimethyl fumarate (DMF) in leather was developed. With dichloromethane as solvent and neutral aluminum oxide as grease-removing agent, DMF in leather samples were extracted by ultrasonic treatment, and then determined by HPLC after dehydrating by anhydrous sodium sulfate. The limit of determination of this method was 0.06 mg/kg. In the additive dosage from 0.1 mg/kg to 5 mg/kg, the recovery rate of DMF were 63.9% to 92.4%, and the relative standard deviation were 1.08% to 1.63%. This Determination method is simple, rapid and suitable for the identification and quantification of dimethyl fumarate residue in leather.

Key words: Dimethyl fumarate; High performance liquid chromatography; Leather

前言

富马酸二甲酯 (Dimethyl Fumarate, 简称 DMF), 又称反丁烯二酸二甲酯, 为白色片状或粉末状结晶体, 稍有辛辣味, 常温易升华, 易溶于乙酸乙酯、氯仿、丙酮和醇类。作为美国上世纪 80 年代开发出来的一种防霉剂, 它能抑制多种霉菌、酵母菌及细菌, 广泛应用于建材、木材、塑料制品、图书、皮革、纺织品等行业的防霉防蛀。富马酸二甲酯可经消化道、呼吸道和皮肤进入人体, 超过正常使用量时对眼

睛、粘膜及上呼吸道有刺激作用, 可能造成皮肤过敏、皮疹或灼伤。2008 年以来, 欧洲相继发生中国皮革产品使用含 DMF 防霉剂致消费者过敏事件, 主要涉及的产品包括椅子和鞋。为此欧盟委员会通过 2009/251/EC 指令, 规定 2009 年 5 月 1 日后, 禁止含有富马酸二甲酯的产品投放市场或在市场上销售, 已经投放市场或在市场上销售的含有富马酸二甲酯的产品应予收回; 规定产品及包装内不得使用含有富马酸二甲酯的干燥剂、防霉剂小袋, 产品中富马酸二甲酯含量应小 0.1 mg/kg。在指令 2009/251/EC 到期前, 欧盟又发布 2010/153/EU 指令, 将富马酸二甲酯禁令的有效期延长一年。为了避免因皮革原辅材料或干燥剂、防霉剂因此而导致的出口退货召回事件, 建立皮革产品及原辅材料中富马酸二甲酯的测定方法迫在眉睫。目前, 国内对富马酸二甲酯的检测方法的报道主要集中在食品

收稿日期: 2010-09-02

基金项目: 福建省晋江市科技计划项目 (2009-2-62)

第一作者简介: 黄瓚, 女, 1979 年生, 硕士。

* 通讯联系人

检测方面,主要的检测方法有气相色谱法^[1-3],高效液相色谱法^[4],气相色谱—质谱联用法^[5]等。也有少量纺织品^[5]及皮革样品^[6]检测方法的报道。

本文建立了采用超声波萃取、中性氧化铝脱脂净化,低温浓缩定容,最后采用高效液相色谱法对皮革样品中富马酸二甲酯进行定性定量的检测方法。该方法简单易操作,回收率高,结果准确,检测限低,能够满足日常皮革样品的检测。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器: 高效液相色谱仪 (1200 配二极管阵列检测器): Agilent; 色谱柱: Eclipse XDB - C18 柱: Agilent; KQ - 100DB 型超声波萃取装置: 昆山市超声仪器有限公司; RE52CS 型旋转蒸发器: 下海亚荣生化仪器厂。

试剂: 富马酸二甲酯标准品(纯度 99.0%): Dr. Ehrenstorfer; 二氯甲烷(色谱纯); 中性氧化铝(柱层析用); 无水硫酸钠(分析纯); 乙腈(色谱纯)。

1.2 样品预处理条件的确定

本文根据文献报道,同时参考 EPA3550B^[7] 及

EPA8270D - 2007^[8] 的方法,初步建立采用二氯甲烷为溶剂进行超声波萃取,同时用中性氧化铝脱脂,萃取液用无水硫酸钠脱水后浓缩定容,样液用高效液相色谱仪进行定性定量测定的方法。具体方法为: 准确称取样品 10 g(精确到 0.001 g),置于锥形瓶中,加入一定量的中性氧化铝及二氯甲烷,超声波萃取,萃取液用装有无水硫酸钠的漏斗过滤至圆底烧瓶中。滤液于 40 °C 蒸发至近干,用约 1 mL 二氯甲烷分多次洗涤圆底烧瓶,洗涤液转移至离心管,用二氯甲烷定容至 2 mL。最后 4000 r/min,离心分离 3 min,取上层样液用高效液相色谱分析。

为了找到最佳的萃取条件,获得较高的回收率,将富马酸二甲酯添加量为 5 mg/kg 的皮革作为测试样品,以萃取次数、中性氧化铝用量及萃取温度为影响因素,回收率为指标,试验设计了三因素三水平正交试验进行条件优化,选择 L9(3⁴) 正交表,因素水平表如表 1 所示。

表 1 萃取条件优化因素水平表

Tab. 1 factors and levels of optimizing extracting conditions

水平	因素 A (萃取次数(20min/次))	因素 B (萃取温度/°C)	因素 C (中性氧化铝量/g)
1	1	25	0
2	2	35	5
3	3	45	10

1.3 高效液相色谱定性定量分析条件

色谱柱: Eclipse XDB - C18 柱;

进样量: 1.0 μL;

流动相: 水/乙腈体系;

流速: 1 mL/min;

色谱信号储存波长: 220 nm;

光谱信号: 190 ~ 400 nm。

比较标准溶液与样液的色谱峰保留时间和紫外吸收光谱进行定性判断,通过标准工作曲线用外标法定量。

1.4 标准溶液配制

富马酸二甲酯标准品 0.25 g,用二氯甲烷(色

谱纯)溶解,定容为 500 mL,配成质量浓度为 500 μg/mL 标准储备液。使用时按实际需要稀释成不同浓度的标准工作溶液。

1.5 定量检出限的计算

在样品中能检测出的被测组分的最低浓度称为检测限,即产生信号为基线噪音标准差 k 倍时的样品浓度,本测试方法取信噪比 $S/N = 10$ 时的浓度为定量检测限。在已知样液浓度 C_i 时,检测限 C_L 的计算如下所示:

$$C_L = \frac{10 \times C_i \times N}{S}$$

2 结果与讨论

2.1 样品预处理条件的确定

根据富马酸二甲酯溶解性和文献报道,本测试方法采用二氯甲烷作为萃取溶剂对皮革样品进行

萃取。在萃取过程中,萃取的次数、为了脱脂净化加入的中性氧化铝的量和萃取时的温度是影响回收率的重要因素。为此,我们设计了三因素三水平正交试验进行条件优化。正交试验的结果如表 2 所示。

表 2 $L_9(3^4)$ 试验方案及试验结果分析

Tab. 2 $L_9(3^4)$ Orthogonal test project and results analyses

试验号	A	空列	B	C	回收率
1	1	1	1	1	0.424
2	1	2	2	2	0.841
3	1	3	3	3	0.645
4	2	1	2	3	0.92
5	2	2	3	1	0.746
6	2	3	1	2	0.789
7	3	1	3	2	0.921
8	3	2	1	3	0.546
9	3	3	2	1	0.894
K_1	1.910	2.265	1.759	2.064	
K_2	2.455	2.133	2.655	2.551	
K_3	2.361	2.328	2.312	2.111	
k_1	0.637	0.755	0.586	0.688	
k_2	0.818	0.711	0.885	0.850	
k_3	0.787	0.776	0.771	0.704	
极差	0.545	0.195	0.896	0.487	
因素主次				BAC	
优方案				A2 B2C2	

对结果的极差分析法分析表明:影响回收率的因素主次排列为 $B > A > C$,即萃取温度 $>$ 萃取次数 $>$ 中性氧化铝用量;以提高回收率为目的,最优萃取条件为 A2B2C2,即萃取温度 $35\text{ }^\circ\text{C}$,萃取次数 2 次,萃取过程中同时加入 5 g 中性氧化铝进行脱脂。

以各因素水平为横坐标, k 为纵坐标绘制因素指标趋势如图 1 所示。

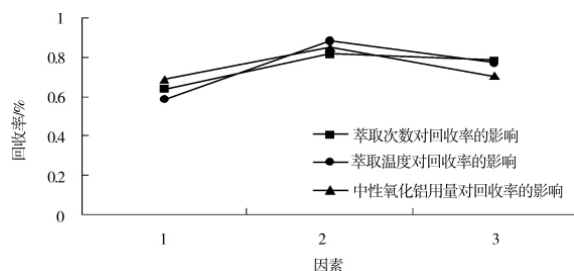


图 1 各因素指标趋势图

Fig. 1 tendency charts of the factors

由图 1 可以看出:萃取温度对回收率的影响最

为明显,温度太低不利于萃取完全,但由于富马酸二甲酯挥发性较强,萃取温度太高也会造成损失。选择萃取温度为 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 既可以达到较高的回收率,且温度易于控制,有利于试验数据的重现。

萃取两次较萃取一次回收率有显著的增加,但如果萃取次数为三次时回收率较萃取两次没有明显增加,故选择萃取两次可以达到较好的结果。

中性氧化铝的用量对回收率也有影响,用中性氧化铝用量为 5 g 时比 0 g 和 10 g 的效果都好。这是由于皮革中属于含有脂肪、染料、蛋白等杂质,会影响到富马酸二甲酯萃取的回收率,在萃取过程中加入一定量的中性氧化铝脱脂,样品的分散性更好,萃取液澄清,有利于萃取完全,但如果加入的量过大,中性氧化铝对富马酸二甲酯本身会有一定的吸附,造成回收率降低,所以我们选择加入 5 g 中性氧化铝进行直接脱脂。

为了验证最优方案,采用最优方案 A2B2C2(即

萃取温度 35℃,萃取次数 2 次,萃取过程中同时加入 5 g 中性氧化铝进行脱脂)对样品进行预处理,最后测定回收率为 92.4%,优于正交表中最好的第 4 号试验回收率,最终确定 A2B2C2 为真正的优方案。

2.2 高效液相色谱条件的选择

高效液相测定富马酸二甲酯采用甲醇/水,乙醇/水和乙腈/水作为流动相都有报道,但使用乙腈和水作为流动相进行测试干扰更少,分离效果好,因此本试验方法选择乙腈/水体系作为流动相。

对富马酸二甲酯标准品在 200~400 nm 波长范围内进行扫描,得到图 2 所示光谱图,说明富马酸二甲酯在 220 nm 至 230 nm 有较强的吸收,综合考虑减少流动相乙腈(截止波长为 190 nm)对测定的干扰,本实验选择 220 nm 作为检测波长。

在进样量 1.0 μL,柱温 30℃、流速 1 mL/min 情况下,采用不同的乙腈/水配比作为流动相,随着水的比例的增大,富马酸二甲酯的出峰时间越来越推后,峰型变宽。最终选择 70% 水 + 30% 乙腈作为流动相,出峰时间控制为 4.6 min 左右。在以上确定的高效液相色谱条件下,得到富马酸二甲酯的色谱图如图 3 所示。

2.3 方法线性及检出限

以二氯甲烷为溶剂,将富马酸二甲酯标准品配成含量分别为 0.15、0.78、1.57、3.14、6.28、9.42 μg/mL 的标准系列,在 3.2 确定的色谱条件下进行测定。以富马酸二甲酯响应值对浓度作图,得到图 4 所示的标准工作曲线。由图 4 可知:在 0.1 μg/mL 到 9.4 μg/mL 范围内,富马酸二甲酯浓度对峰面积响应值符合比尔定律,工作曲线为 $A = 5.3618C + 0.1203$ (其中 A 为峰面积, C 为富马酸二甲酯浓度)工作曲线的线性相关系数为 $R = 0.99984$ 。

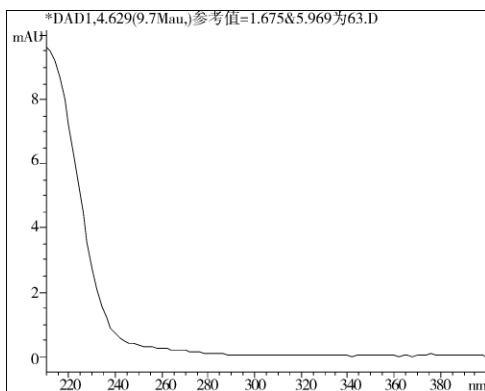


图 2 富马酸二甲酯的光谱图

Fig. 2 Spectrogram of dimethyl fumarate

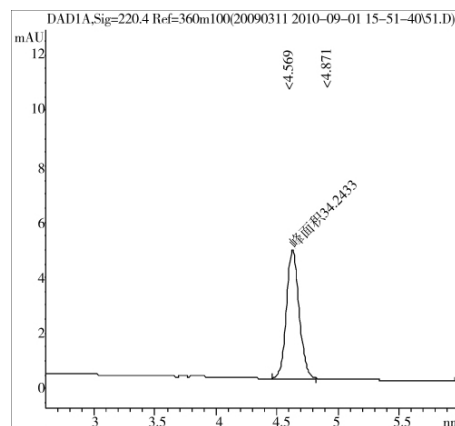


图 3 富马酸二甲酯标准品的高效液相色谱

Fig. 3 Chromatogram of dimethyl fumarate standard solution

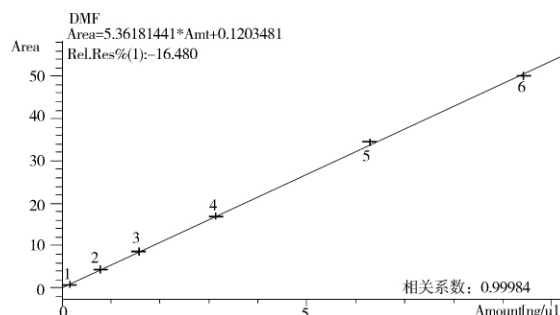


图 4 富马酸二甲酯标准工作曲线

Fig. 4 Calibration curve of dimethyl fumarate

同时,在 3.2 选定的色谱参数下计算了被测样品富马酸二甲酯定量检出限。按 2.5 中公式进行计算,质量浓度为 0.1 μg/mL 的富马酸二甲酯样液,以 10 倍噪音计 ($S/N = 10$) 时,本方法最低检出浓度为 0.3 μg/mL。当取样量为 10 g,定容体积为 2 mL 时,本方法的最低检出限为 0.06 mg/kg。符合欧盟 2009/251/EC 指令对富马酸二甲酯限量 0.1 mg/kg 的检测要求。

2.4 方法回收率及精密度

取不含富马酸二甲酯的皮革样品,按本方法优化确定的条件,进行 3 水平添加回收试验,每个添加水平取 6 个平行样,回收率与精密度数据见表 3。

3 结论

本文建立了皮革样品中富马酸二甲酯含量的定量分析方法:通过二氯甲烷超声波萃取,中性氧化铝脱脂,无水硫酸钠脱水,高效液相色谱进行分离,二极管阵列检测器检测。该方法测定低限为 0.06 mg/kg,在 0.1~5 mg/kg 的添加水平范围内, (下转 75 页)

5 箱包产业的新局面

根据国内外资深专家分析,21 世纪前 20 年或更长一些时间,仍是中国皮革业发展的大好时机。为此我们坚信,中国箱包业也会得到更好的发展。中国箱包从大国跨向强国的目标一定能够实现。中国箱包业一定会迎来一个新的局面:第一,随着品牌价值的提高,产品的附加值也会跟着增加,企业将实现低成本高利润。中国箱包业将不再是纯粹的生产车间,以数量求发展的时期已经过去,中国箱包不再是低档产品。第二,企业思想观念的转变,采用了新的理念、新的管理、新的服务、新的经营模式。使企业的形象得到了很大的提高,形成了良好的企业文化,从而使产品的质量和服务得到了保证,促使了我国箱包业在国际上的信誉度得到了提高。第三,技术的更新,打破欧洲等国的技术壁垒。环境污染将得到了改善,从而可以实现可持续发展。第四,加大了自主创新,新产品不断上市。拥有自己的品牌和独特的风格,引领世界箱包的时尚。占有很大的市场,消费者的忠诚度得到提高。第五,区域产业发展平衡,结构性矛盾得到改善。

中国箱包业的抗风险力得到增强。

6 总结

在当今世界,中国发展箱包产业的诸多优势,是其他任何一个国家或地区难以取代的。中国拥有丰富的资源、完善的产业链、极具潜力的市场。所以中国箱包企业只要加强技术的革新、思维理念的创新,创建品牌、开创箱包产业新局面的目标就一定能够实现。

参考文献:

[1] 吴俊. 中国箱包行业国际竞争力的分析[J]. 知识经济 2009 (16): 109 - 110.
 [2] 田美. 中国皮革工业现状分析及发展对策[J]. 中国皮革 2008 37(1): 42 - 44 #7.
 [3] 张媛媛,廖启平. 福建省旅行用品及箱包出口存在不利因素[N]. 国际商报,2008,5. 2008,5月1日,第 011 版
 [4] 杨丽,李天铎. 我国皮革行业的品牌战略研究[J]. 中国皮革 2004 33(13): 3 - 6.
 [5] 吴丰. 市场营销管理[M]. 成都: 四川大学出版社, 2004: 265 - 269.

(上接 71 页)

表 3 空白皮革样品中富马酸二甲酯的加标回收率及相对标准偏差

Tab.3 Recovery rate and relative standard deviation of dimethyl fumarate in leather sample

加标浓度/(mg/kg)	加标回收率/%							平均添加回收率/%	相对标准偏差/%
0.1	63.0	63.6	65.4	64.9	63.8	62.8	63.9	1.62	
2	90.7	91.9	89.6	91.7	88.4	92.1	90.7	1.63	
5	92.7	91.9	90.6	92.7	93.4	93.0	92.4	1.08	

富马酸二甲酯的回收率为 63.9% ~ 92.4%, 相对标准偏差为 1.08% ~ 1.63%。方法操作简单,具有较高的回收率和较宽的线性范围,准确度和稳定性好,测定低限能够满足限量的要求。

参考文献:

[1] 陈学灿,林芳,戴金兰,等. 解析富马酸二甲酯在皮革行业的限用问题[J]. 西部皮革 2009 31(3): 32 - 35.
 [2] HPLC 和 GC - MS 检测皮革中富马酸二甲酯效果对比[J]. 皮革科学与工程 2009 19(3): 71 - 74.
 [3] 刘文静,赵小珍,张松. 糕点中富马酸二甲酯的毛细管气相色谱快速测定[J]. 分析测试技术与仪器 2010,

16(1): 32 - 35.
 [4] 何小青,罗美中,蓝勇波,等. 高效液相色谱法测定食品中的富马酸二甲酯[J]. 光谱实验室 2004 21(4): 701 - 704.
 [5] 钱凯,曹锡忠,丁反超,等. 纺织品中富马酸二甲酯的测定[J]. 印染 2009 14: 44 - 45.
 [6] 冯楠,路勇,吴颖,等. 超高效液相色谱法测定皮革样品中富马酸二甲酯[J]. 中国卫生检验杂志 2009 19(8): 1801 - 1803.
 [7] EPA3550B. 超声波萃取法[S].
 [8] EPA8270D - 2007. 气相色谱 - 质谱法检测半挥发性有机物[S].