ICS
CCS

团　体　标　准

T/SSX 00X—2023

植物油中邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯的快速测定-纸基比色智能手机读卡法

Rapid determination of di-2-ethylhexyl phthalate in vegetable oils by paper-based colorimetric smart phone card reading method

（征求意见稿）

XXXX - XX - XX 发布　　XXXX - XX - XX 实施

陕西省食品科学技术学会　发布

目 次

1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语和定义 1
4 原理 1
5 试剂和材料 1
6 仪器与设备 2
7 试样的制备和保存 2
8 分析步骤 2
9 结果计算与表述 3
10 检测限 3
11 精密度 3
12 原理 3
13 试剂和材料 4
14 仪器与设备 4
15 试样的制备和保存 4
16 分析步骤 4
17 检测限 5
18 精密度 5
附 录 A 6

前　　言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由陕西省食品科学技术学会提出并归口。

本文件负责起草单位：陕西师范大学、西安市粮油质量检验中心

本文件参与起草单位：陕西省粮油科学研究院、西安市产品质量监督检验院

本文件主要起草人：李建科、张玉环、雷亚楠、吴丽华、孟永宏、武利梅、龚珊、王峰

本文件由陕西省食品科学技术学会负责解释。

本文件为首次发布。

联系信息如下：

单位：陕西省食品科学技术学会

电话：13659196911

地址：陕西省西安市长安区西长安街 620 号陕西师范大学食品工程与营养科学学院

邮编：710119

植物油中邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯的快速测定-纸基比色智能手机读卡法

1 范围

本文件规定了植物油中邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯（DEHP）含量测定的纸基比色智能手机读卡法。本文件适用于植物油中DEHP含量的测定。

2 规范性引用文件

本文件无规范性引用文件

3 术语和定义

本文件无术语和定义。

R 值读卡检测法

4 原理

纳米金在不同离散条件下由于局域表面等离子共振效应会导致溶液颜色发生变化，这是比色检测方法的基础。当纳米金胶体暴露于一定浓度的NaCl溶液时，纳米金表面的双电层被破坏，其稳定性显著降低，从均匀分散状态转变为聚集状态，同时溶液颜色从红色变为蓝色；若在体系中加入适量的对塑化剂具有特异性识别作用的DNA适配体，由于纳米金对适配体的吸附，纳米金胶体稳定性增强，在相同的NaCl浓度诱导条件下纳米金胶体仍然保持红色。在加入目标物塑化剂后，塑化剂分子与适配体发生特异性结合，竞争性争夺纳米金表面吸附的适配体，降低纳米金胶体对NaCl溶液的稳定性，胶体颜色由红色变成蓝色，颜色变化程度可由RGB颜色模型中的R值表示，R值大小与塑化剂含量呈负相关函数关系。以纸芯片为显色基底，采用手机软件读取纸芯片颜色信息，获取R值并根据函数关系计算得到浓度数值，实现对DEHP含量的快速检测。

5 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯；实验室用水符合GB/T 6682中规定的二级水。

5.1 氯金酸（$HAuCl_4 \cdot 3H_2O$，CAS 登录号：16961-25-4）：纯度大于 99%，相对分子质量 393.83。

5.2 柠檬酸钠：分析纯。

5.3 邻苯二甲酸二（2-乙基）己酯（DEHP）：CAS 登录号：117-81-7，相对分子质量 390.56。

5.4 DEHP 适配 5’-ACGCATAGGGTGCGACCACATACGCCCCATGTATGTCCCTTGGTTGTGCCCTATGCGT-3’。

5.5 二甲基亚砜：分析纯。

5.6 氯化钠（NaCl）：分析纯。

5.7 纳米金溶液：柠檬酸钠还原法制备纳米金：将 50 mL 1 mmol/L HAuCl4 •3H2O 加入 100 mL 水中，加热至 70℃，在搅拌条件下，迅速加入 5 mL 38.8 mmol/L 柠檬酸钠溶液，持续加热 20 min 后，将溶液缓慢冷却至室温，将纳米金储存在棕色试剂瓶中，置于 4℃冰箱冷藏备用。

5.8 DEHP 标准溶液配制

5.8.1 DEHP 标准储备液（50.00 mg/mL）：准确称取 DEHP 标准品 0.5000 g（精确至 0.0001 g），用二甲基亚砜配制成至 10 mL 的标准储备液，于 4 °C 冰箱中避光保存备用，有效期 6 个月。

5.8.2 DEHP 标准中间溶液（1.00 mg/mL）：吸取 0.50 mL DEHP 标准储备液用二甲基亚砜定容至 10 mL。

5.8.3 DEHP 标准工作溶液：准确吸取 DEHP 标准中间溶液 0.00 mL、0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL 于 10 mL 容量瓶中，用二甲基亚砜定容，得到 DEHP 浓度分别为 0.00 mg/mL、0.05 mg/mL、0.10 mg/mL、0.15 mg/mL、0.20 mg/mL、0.25 mg/mL 的标准工作液，于 4 ℃冰箱中避光保存备用，有效期 1 周。

6 仪器与设备

6.1 智能手机：安装软件—Colorassist，可直接读取图片的 R、G、B 数值。

6.2 容量瓶：10 mL、25 mL。

6.3 离心机：转速不低于 4000 r/min。

6.4 量筒：10 mL 和 50 mL。

6.5 分析天平：万分之一电子天平。

6.6 涡旋振荡器。

6.7 具塞玻璃试管：25 mL。

6.8 玻璃移液管：1 mL、5 mL、10 mL。

6.9 滤纸条：将滤纸剪成 5 mm 宽的滤纸条。

6.10 锥形瓶：250 mL。

6.11 磁力搅拌器：带有加热设置。

6.12 试剂瓶：250 mL。

6.13 玻璃培养皿：直径 90 mm。

注：所有玻璃器皿洗干净后，用双蒸水淋洗 3 遍，丙酮浸泡 1h，在 60℃下烘烤 2h，冷却至室温备用。

7 试样的制备和保存

7.1 试样制备

植物油样品可以直接取样称量。

7.2 试样保存

试样均于 0~4℃保存。应避免接触塑料，防止样品受到污染。

8 分析步骤

8.1 样品制备

称取样品 1g±0.01g 于具塞玻璃试管中，加入 5 mL 二甲基亚砜，涡旋振荡 1 min，于 4000 r/min 下离心 3 min，收集上清液。重复提取 1 次，合并上清液待测，提取液置于 4 ° C 冰箱中避光保存，5 天内测定。

8.2 测定

8.2.1 DEHP 标准曲线测定法测定步骤

在滤纸条上滴加 5 μL 纳米金，再滴加 5 μL 300 nmol/L DEHP 适配体，孵育 5 min 后，滴加 10 μL 不同浓度的 DEHP 标准工作液（5.8.3），孵育 5 min，滴加 5μL 50 mmol/L NaCl 溶液，显色后用智能手机拍照，用 Colorassist 软件读取图片的 R 值，确定 DEHP 标准工作液浓度与 R 值之间的线性关系。

8.2.2 样品中 DEHP 含量的测定：

在滤纸条上滴加 5 μL 纳米金，再滴加 5 μL 300 nmol/L DEHP 适配体，5 min 后，滴加 10 μL 样品提取液（8.1），反应 5 min，滴加 5μL 50 mmol/L NaCl 溶液，显色后用智能手机拍照，根据标准曲线计算出 DEHP 浓度。重复检测两次，以两次测量的平均值作为最终测定结果。

8.3 空白试验

空白试验系指不加试样外，采用完全相同的分析步骤、试剂和用量，进行平行操作。

8.4 检测条件

在拍照过程中，保持灯光、拍摄距离和角度一致。

9 结果计算与表述

以智能手机读取图片的R值为纵坐标，DEHP标准溶液的浓度为横坐标，绘制标准曲线，参见附录A中A.1。从标准曲线上得到相应的DEHP浓度（c）后，样品中DEHP的含量按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m} \qquad \text{……（1）}$$

式中：

X——样品中DEHP的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c——由标准曲线查得DEHP的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

V——测试溶液的体积（=10 mL）；

m——样品质量，单位为克（g）；

测定结果用平行测定的算术平均值表示，计算结果保留三位有效数字。

10 检测限

本方法 DEHP 的检测限为 0.0069 mg/mL。

11 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于其算术平均值的 10%。

PDCS 软件智能读卡检测法

12 原理

纳米金在不同离散条件下由于局域表面等离子共振效应会导致溶液颜色发生变化，这是比色检测方法的基础。当纳米金胶体暴露于一定浓度的NaCl溶液时，纳米金表面的双电层被破坏，其稳定性显著降低，从均匀分散状态转变为聚集状态，同时溶液颜色从红色变为蓝色；若在体系中加入适量的对塑化剂具有特异性识别作用的DNA适配体，由于纳米金对适配体的吸附，纳米金胶体稳定性增强，在相同的NaCl浓度诱导条件下纳米金胶体仍然保持红色。在加入目标物塑化剂后，塑化剂分子与适配体发生特异性结合，竞争性争夺纳米金表面吸附的适配体，降低纳米金胶体对NaCl溶液的稳定性，胶体颜色由红色变成蓝色，颜色变化程度可由RGB颜色模型中的R值表示，R值大小与塑化剂含量呈线性相关函数关系。基于该原理已开发手机软件-PDCS，该软件可读取纸芯片显色基底的色值信息，直接输出DEHP浓度，实现DEHP含量的快速检测。

13 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯；实验室用水符合GB/T 6682中规定的二级水。

13.1 氯金酸（$HAuCl_4 \cdot 3H_2O$，CAS 登录号：16961-25-4）：纯度大于 99%，相对分子质量 393.83。

13.2 柠檬酸钠：分析纯。

13.3 邻苯二甲酸二（2-乙基）己酯（DEHP）：CAS 登录号：117-81-7，相对分子质量 390.56。

13.4 DEHP 适配体：5’-ACGCATAGGGTGCGACCACATACGCCCCATGTATGTCCCTTGGTTGT GCCCTATGCGT-3’。

13.5 二甲基亚砜：分析纯。

13.6 氯化钠（NaCl）：分析纯。

13.7 纳米金溶液：柠檬酸钠还原法制备纳米金：将 50 mL 1 mmol/L HAuCl4 • 3H2O 加入 100 mL 水中，加热至 70℃，在搅拌条件下，迅速加入 5 mL 38.8 mmol/L 柠檬酸钠溶液，持续加热 20 min 后，将溶液缓慢冷却至室温，将纳米金储存在棕色试剂瓶中，置于 4℃冰箱冷藏备用。

14 仪器与设备

14.1 智能手机：安装软件—基于 Python 语言的塑化剂浓度检测系统（PDCS），软件可自动识别显色位点的颜色信息，提取 R 值，并转化为 DEHP 浓度数值输出。

14.2 容量瓶：10 mL、25 mL

14.3 离心机：转速不低于 4000 r/min

14.4 量筒：10 mL 和 50 mL

14.5 分析天平：万分之一电子天平

14.6 涡旋振荡器

14.7 具塞玻璃试管：25 mL

14.8 玻璃移液管：1 mL、5 mL、10 mL

14.9 滤纸条：将滤纸剪成 5 mm 宽的滤纸条

14.10 锥形瓶：250 mL

14.11 磁力搅拌器：带有加热设置

14.12 试剂瓶：250 mL

14.13 玻璃培养皿：直径 90 mm

注：所有玻璃器皿洗干净后，用双蒸水淋洗3遍，丙酮浸泡1h，在60℃下烘烤2h，冷却至室温备用。

15 试样的制备和保存

15.1 试样制备

植物油样品可以直接取样称量。

15.2 试样保存

试样均于0~4℃保存。应避免接触塑料，防止样品受到污染。

16 分析步骤

16.1 样品制备

称取样品1g±0.01g于具塞玻璃试管中，加入5 mL二甲基亚砜，涡旋振荡1 min，于4000 r/min下离心3 min，收集上清液。重复提取1次，合并上清液待测，提取液置于4 °C冰箱中避光保存，5天内测定。

16.2 测定

在滤纸条上滴加5 μL纳米金，再滴加5 μL 300 nmol/L DEHP适配体，5 min后，滴加10 μL样品提取液（8.1），反应5 min，滴加5μL 50 mmol/L NaCl溶液，显色后用智能手机拍照，利用PDCS读取数据，输出DEHP浓度。重复检测两次，以两次测量的平均值作为最终测定结果。

16.3 检测条件

在拍照过程中，保持灯光、拍摄距离和角度一致。

17 检测限

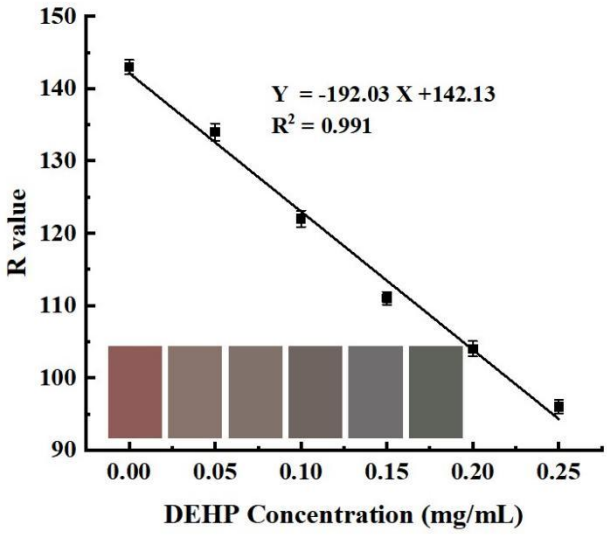
本方法 DEHP 的检测限为 0.0069 mg/mL。

18 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于其算术平均值的 10%。

附 录 A
（规范性附录）
DEHP 标准曲线谱图

A.1 DEHP标准曲线谱图示例见图A.1。



图A.1 DEHP标准曲线谱图示例