

高效液相色谱法测定食品接触聚苯乙烯制品中 9种荧光增白剂

吴钟玲¹, 陈树东¹, 林晓佳¹, 穆同娜², 吴治将³, 郭新东¹, 郭茂章¹, 洗燕萍¹, 罗东辉¹

(1. 广州市质量监督检测研究院, 国家加工食品质量监督检验中心(广州), 广东广州 510110)

(2. 北京市海淀区产品质量监督检验所, 北京 100094) (3. 顺德职业技术学院, 广东顺德 528000)

摘要: 建立了高效液相色谱-荧光检测法(HPLC-FLD)同时测定食品接触聚苯乙烯(PS)塑料制品中9种荧光增白剂(FWA52、FWA135、FWA184、FWA185、FWA199、FWA367、FWA368、FWA378、FWA393)的方法。样品以三氯甲烷溶液提取后,以甲醇沉淀塑料制品中的聚合物,以Phenomenex Gemini C18色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),甲醇和水作为流动相进行梯度洗脱,有效分离了9种目标物质。考察了方法的灵敏度、线性范围、回收率和精密度,结果表明,9种荧光增白剂在0.32~200 μg/L范围内线性关系良好,相关系数均大于0.9992,方法定量限(S/N=10)在1.0~8.0 μg/kg之间,添加水平为5~500 μg/kg时,样品的回收率为88.0~98.9%,相对标准偏差(RSD, n=6)在2.11~4.34%之间。该法前处理简单、回收率高、精密度好,适用于食品接触聚苯乙烯(PS)塑料制品中9种荧光增白剂的测定。

关键词: 荧光增白剂; 高效液相色谱法; 聚苯乙烯; 食品接触材料

文章编号: 1673-9078(2013)11-2757-2761

Determination of Nine Fluorescent Whitening Agents in Food Contact Polystyrene Materials by High Performance Liquid Chromatography

WU Zhong-ling¹, CHEN Shu-dong¹, LIN Xiao-jia¹, MU Tong-na², WU Zhi-jiang³, GUO Xin-dong¹,
GUO Mao-zhang¹, XIAN Yan-ping¹, LUO Dong-hui¹

(1. Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Guangzhou), Guangzhou 510110, China) (2. Haidian District Institute of Products Quality Supervision and Inspection, Beijing 100094, China) (3. Shunde polytechnic, Shunde 528000, China)

Abstract: A new analytical method was developed for the simultaneous determination of nine fluorescent whitening agents (FWA52, FWA135, FWA184, FWA185, FWA199, FWA367, FWA368, FWA378 and FWA393) in food contact polystyrene materials by high performance liquid chromatography-fluorescence detector (HPLC-FLD). The sample was extracted with trichloromethane, and then cleaned up by precipitating the polymer with methanol and analyzed by HPLC using a Phenomenex Gemini C₁₈ column with methanol - water as the mobile phase for gradient elution. The result indicated that the limits of quantification (LOQs) of nine FAWs were ranged from 1.0~8.0 μg/kg and the linear correlation coefficients ($r > 0.9992$) were obtained within the irrespective linear ranges (0.32~200 μg/L). The recovery rates from spiked samples at the spiking levels of 5~500 μg/kg were ranged from 88.0% to 98.9% with RSD of 2.11~4.34% (n=6). The method was simple, precise and had high recovery rate for determination of FAWs in food contact polystyrene materials.

Key words: Fluorescent whitening agents; High performance liquid chromatography fluorescence detector; Polystyrene; Food contact materials

收稿日期: 2013-08-11

基金项目: 国家自然科学基金(No 51246006); 国家质检总局科技计划项目(20120K074)

作者简介: 吴钟玲(1979-),女,高级工程师,研究方向为食品及食品相关产品分析技术研究

通讯作者: 吴治将(1979-),男,博士,讲师,主要从化学工程、食品冷藏和强化传热的研究

荧光增白剂(Fluorescent whitening agents, FWAs)是一种无色的荧光染料,在紫外光的照射下,可激发出蓝、紫光,与基础物质的黄光互补而具有增白的效果,迄今为止,FWAs应用的范围覆盖了纺织、造纸、洗涤剂及塑料等领域,FWAs在塑料包装材料中使用可以提高产品的白度和艳度,从而提高塑料包装材料的外观性能^[1]。尽管有研究机构通过对人体健康和环

境影响进行的风险评估,显示在目前的使用情况下风险较小^[2],但是由于荧光增白剂普遍含有芳香胺基结构和苯乙烯基结构,在毒理上具有潜在的致癌性,因此,中国、欧盟和美国等国家都制定了允许用于生产塑料食品接触材料和制品的添加剂清单(肯定列表),同时也规定了相关的限量和/或特定迁移量^[3-5],例如FWA184,欧盟法规2002/72/EC和GB 9685-2008都规定了其特定迁移量(SML)为0.6 mg/kg,GB 9685-2008还规定了聚苯乙烯塑料制品中的最大使用量为0.02%,美国则针对不同用途的塑料产品规定FWA184的加入量不得超过0.015%。因此,建立食品接触性塑料制品中FWAs的定性定量检测方法,有利于对可能存在的违禁添加和超量使用FWAs的行为进行监管。

目前,国内外关于FWAs的检测方法主要有紫外灯法^[6]、荧光法^[7],液相色谱法^[8-13]和液相色谱串联三重四级杆质谱法^[14-16],其中紫外灯法为直接照射观测,只能定性;荧光法能定量,但不能鉴定FWAs的种类;液相色谱串联三重四极杆虽然可以对样品中的FWAs准确定量定性,但液质联用仪价格昂贵,检测成本高;液相色谱是现在化学实验室常配备的一种设备,价格相对较低,而荧光检测器具有较高的灵敏度。本研究选择9种塑料工业常用的荧光增白剂作为研究对象,根据FWAs的光学性质,使用高效液相色谱分离,荧光检测器检测,建立了食品接触聚苯乙烯塑料制品中9种禁限用FWAs(结构式见表1)含量的检测方法,方法操作简单、可靠,能够对样品中的FWAs进行准确的定性和定量。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

9种FWAs标准品:FWA 52、FWA 184、FWA 199、FWA 367、FWA 368、FWA 378和FWA 393(梯希爱(上海)化成工业发展有限公司),FWA 185和FWA 135(International laboratory U.S.A)购于安谱公司;甲醇(色谱纯,美国Fisher公司)、三氯甲烷(分析纯,广州试剂厂),实验用水为经Milli-Q净化系统过滤的去离子水。

1.2 仪器与设备

WATERS 2695高效液相色谱仪配2475荧光检测器(美国Waters公司);RF-5310PC荧光分光光度计(日本SHIMADZU公司);MS3 basic漩涡混合器(德国IKA公司);KQ-250DV型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);Milli-Q去离子水发生器(美国Millipore

公司)。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的制备

FWAs单标准储备溶液(1.0 mg/mL)的配制:称取各标准品0.1000 g于100 mL容量瓶中,分别用三氯甲烷溶解并定容至刻度线,充分摇匀备用。

混合标准储备液(50 mg/L)的配制:各移取5.0 mL单标准储备溶液于100 mL容量瓶中,用甲醇定容到刻度线,摇匀。测试时,将混合标准储备液稀释到所需浓度标准工作液。

1.3.2 试样处理

1.3.2.1 制备

用适当的工具将样品制成约0.5 cm×0.5 cm大小,混合均匀;在制备样品过程应注意防止交叉污染,每制备一种样品后都要对制备工具进行清洁。对于特殊的样品可参考GB/T 5009.78-2003《食品包装用原纸卫生标准的分析方法》,若观测到样品中荧光物质分布不均匀,需鉴定所用FWAs种类,可选取含有荧光物质的部位进行制备。

1.3.2.2 样品前处理

准确称取2.5 g样品于50 mL具塞比色管中,加入30 mL三氯甲烷超声提取至样品溶解,冷却至室温后用三氯甲烷定容,摇匀;移取10.0 mL样品溶液于另一支50 mL比色管中,于漩涡振荡器上边漩涡边缓慢滴加30 mL甲醇,并用甲醇定容,摇匀静置后取1.0 mL上清液过0.22 μm滤膜,供高效液相色谱仪检测。

1.3.3 液相色谱操作条件

色谱柱:Phenomenex Gemini C18色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:甲醇和水;梯度洗脱程序:0~15 min:75~85%甲醇;15~35 min:85~95%甲醇;35~45 min:95~95%甲醇;流速:1.0 mL/min;检测波长:发射波长 λ_{ex} :365 nm;激发波长 λ_{em} :430 nm;进样量:10 μL;柱温:35 °C。

1.3.4 测定步骤

将标准工作溶液按照质量浓度由低到高的顺序进行测定,在指定波长处,以色谱图中的峰面积对其质量浓度绘制标准曲线。试样溶液进样后,以峰面积定量。

2 结果与分析

2.1 检测波长的选择

使用荧光分光光度计先对9种FWAs溶液在220~800 nm范围内进行扫描,获取目标物的最大激发波长;

然后在固定激发波长的条件下，再对9种FWAs溶液在220~800 nm范围内进行扫描，获取目标物的最大发射波长。9种FWAs的最大激发波长和最大发射波长见表1，可见9种FWAs的最大激发波长在365 nm附近，最大发射波长在430 nm附近，故选择试验的波长条件为 $\lambda_{ex}=365\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=430\text{ nm}$ 。

表1 9种FWAs最大激发波长和最大发射波长

Table 1 The maximum excitation wavelength and emission wavelength of nine FWAs

化合物	结构式	荧光光谱图	λ_{ex} /nm	λ_{em} /nm
FWA 52			370	451
FWA 135			361	429
FWA 184			373	436
FWA 185			367	427
FWA 199			368	434
FWA 367			369	429
FWA 368			372	429
FWA 378			356	428
FWA 393			369	426

2.2 溶剂的选择

试验对比了甲醇、甲苯、三氯甲烷、二氯甲烷、N,N-二甲基甲酰胺、N,N-二甲基乙酰胺和四氢呋喃等溶剂对FWAs的溶解性，结果显示三氯甲烷对9种目标FWAs的溶解性最好，甲醇、甲苯和N,N-二甲基甲酰胺等对于部分FWAs的溶解率过低；而根据试验结果，三氯甲烷也对聚苯乙烯塑料材料有很好的溶解，故选用三氯甲烷作为单标标准和样品的溶剂，再使用甲醇进一步稀释。而甲醇溶液也作为聚苯乙烯塑料样品提取溶液中高分子聚合物的沉淀剂，但是实验过程为避免高分子聚合物沉淀过快而将待测物重新包裹成胶块，从而对检测结果造成影响，应该在涡旋振荡器操作下缓慢滴加甲醇。

2.3 分离条件的优化

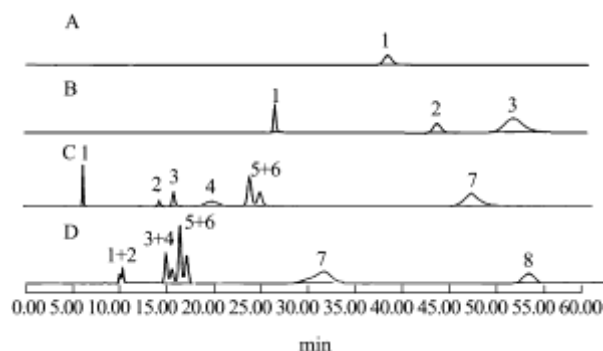


图1 不同流动相的分离效果

Fig.1 The separation effect of different mobile phases

注：1.0 mL/min；1. FWA 52, 2. FWA 199, 3. FWA 135, 4. FWA 185, 5. FWA 367, 6. FWA 393, 7. FWA 368, 8. FWA 378；A：甲醇-水（30:70，V/V）；B：甲醇-水（60:40，V/V）；C：甲醇-水（90:10，V/V）；D：乙腈-水（90:10，V/V）。

为选择适宜的流动相，分别用低、中、高不同比例甲醇-水、乙腈-水作流动相进行等度洗脱（流速为1.0 mL/min）试验。结果显示（见图1），用甲醇-水做流动相，9种目标物在Gemini C18色谱柱中的保留较大，出峰时间相对较长，高比例有机相的流动相能加快目标物的洗脱速度；用乙腈代替甲醇不能提高荧光增白剂的分离效果。而将流动相甲醇-水的流速增加到1 mL/min以上，虽然可以减少洗脱时间，但降低了分离度，部分目标物的色谱峰无法分开，同时还增加了柱压。通过对比，发现使用甲醇-水做流动相体系，采用梯度洗脱程序，9种目标物可在40 min内完成分析，而且分离效果好。因此，选择甲醇-水流动相体系梯度洗脱分离9种目标物（梯度洗脱程序见1.3.3）。

在选定的仪器条件下，9种荧光增白剂的液相色谱图如图2所示，可见9种化合物获得了较好的分离。

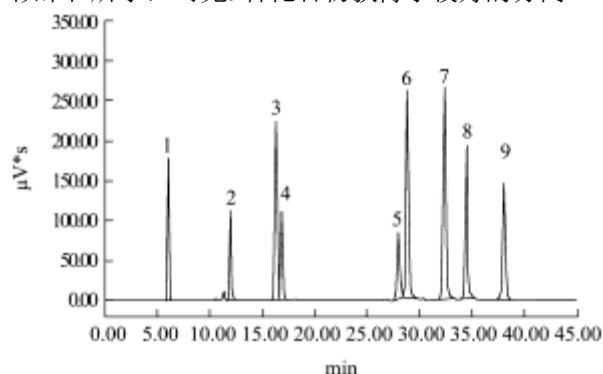


图2 9种荧光增白剂标准色谱图

Fig.2 The chromatograms of standards of nine FWAs

注：1. FWA 52, 2. FWA 199, 3. FWA 135, 4. FWA 185, 5. FWA 367, 6. FWA 393, 7. FWA 368, 8. FWA 378, 9. FWA 184。

2.4 线性关系、检出限和定量限

表 2 9 种 FWAs 准曲线的相关系数、仪器检出限和方法定量限

Table 2 The correlation coefficient for Matrix-Matched Calibration Standards and Solvent Calibration Standards, the instrument detection limit and the method limit of quantification of nine FWAs

化合物	线性方程	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 R^2	仪器检测限 ILOQ/ $(\mu\text{g/L})$	方法定量限 MLOQ/ $(\mu\text{g/kg})$
FWA 52	$y=142322x-96979$	0.32~200	0.999 8	0.08	8.0
FWA 135	$y=318884x-255350$	0.08~200	0.999 7	0.02	2.5
FWA 184	$y=403554x-661984$	0.08~200	0.999 2	0.02	2.0
FWA 185	$y=139580x-9802.7$	0.20~200	0.999 8	0.05	5.0
FWA 199	$y=112417x-147996$	0.20~200	0.999 2	0.05	5.0
FWA 367	$y=501064x-483410$	0.04~200	0.999 4	0.01	1.0
FWA 368	$y=506833x-485217$	0.04~200	0.999 5	0.01	1.0
FWA 378	$y=468874x-727383$	0.08~200	0.999 2	0.02	2.0
FWA 393	$y=162143x-149642$	0.12~200	0.999 6	0.03	3.0

按 1.3.3 节方法测定待测物标准溶液系列, 在 0.32~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内, 标准曲线的相关系数均大于 0.9992 (见表 2), 表明线性关系良好。以 3 倍信噪比 ($S/N=3$) 计算, 9 种目标物的仪器检测限 (ILOQ) 为 0.01 $\mu\text{g/L}$ ~0.08 $\mu\text{g/L}$; 结合前处理条件的稀释倍数 (100 倍), 确定方法定量限 (MLOQ) 为 1.0 $\mu\text{g/kg}$ ~8.0 $\mu\text{g/kg}$ 之间 (见表 2), 表明方法具有较高的灵敏度。

2.5 方法回收率和精密度

取阴性样品, 进行了 3 个水平添加回收率实验, 每个加标水平测定 6 次, 方法回收率和相对标准偏差 (RSD) 见表 3。结果表明, 9 种 FWAs 回收率在 88.0~98.9% 之间, 相对标准偏差在 2.11~4.34% 之间, 说明方法的准确度和精密度达到分析要求。

2.6 实际样品的检测

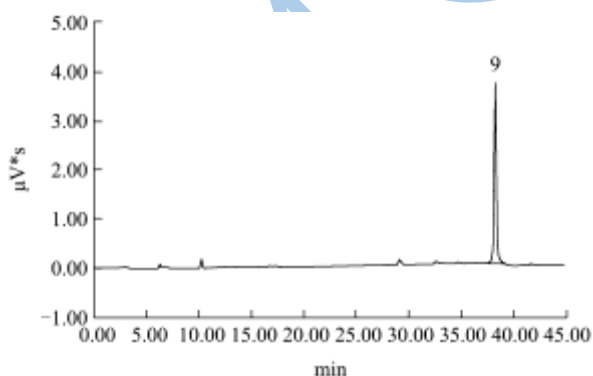


图 3 阳性样品色谱图

Fig.3 The chromatograms of positive sample

使用本方法测定了 10 种聚苯乙烯塑料样品。其中有 1 种样品检出含有 FWA184 (见图 3), 含量为 920 $\mu\text{g/kg}$, 未超过标准限量要求 (0.02%); 其余样品均未检出所测 9 种目标化合物。

表 3 9 种目标物的方法回收率和精密度 (n=6)

Table 3 The method recovery and precision for nine compounds (n=6)

化合物	添加水平/ $(\mu\text{g/kg})$	回收率/%	RSD/%
FWA52	8.0	92.7	3.28
	80.0	90.5	
	800	94.8	
FWA135	2.5	91.3	2.63
	25.0	90.1	
	250	88.0	
FWA184	2.0	88.2	2.69
	20.0	89.6	
	200	91.8	
FWA185	5.0	94.4	2.33
	50.0	92.7	
	500	95.8	
FWA199	5.0	95.2	4.11
	50.0	89.9	
	500	91.8	
FWA367	1.0	93.3	4.34
	10.0	98.9	
	100	94.6	
FWA368	1.0	89.7	2.37
	10.0	92.3	
	100	92.4	
FWA378	2.0	91.0	2.11
	20.0	90.7	
	200	93.2	
FWA393	3.0	88.9	2.15
	30.0	90.2	
	300	87.5	

3 结论

食品接触材料中荧光增白剂问题的关注度日益提高,但我国标准规定的检测方法仅限于紫外灯照射法,该法存在一定的缺陷,不能定性定量检测荧光增白剂的种类,难以满足当前的检测要求。本文通过优化试验条件,建立了高效液相色谱同时测定食品接触聚苯乙烯塑料制品中9种荧光增白剂的方法。方法具有灵敏度高、分离效果好、定量准确等优点,便于在检测机构中推广应用,也可为建立相关的规范或标准提供参考,对行业的监管能起到积极的作用。

参考文献

- [1] 罗磊,乔辉,吴立峰.影响荧光增白剂在塑料中增白效果因素的研究[J].塑料,2006,35(4):80-84
Luo L, Qiao H, Wu L F. Influences of Fluorescent Whitening Agent on Whitening Effect in Plastic [J]. Plastics, 2006, 35(4):80-84
- [2] 董仲生.荧光增白剂的应用和其使用安全性[J].中国洗涤用品工业,2011,4:31-39
Dong Z S. The use and safety of fluorescent whitening agents [J]. China Cleaning Industry, 2011, 4: 31-39
- [3] GB 9685-2008 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准[S]
GB 9685-2008 Hygienic standards for uses of additives in food containers and packaging materials[S]
- [4] 4 21CFR178. 3297-FOOD AND DRUGS CHAPTER I-FOOD AND DRUG ADMINISTRATION DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES SUBCHAPTER B--FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION (CONTINUED) [L]. Code of Federal Regulations, 2009
- [5] European Commission Directive 2002/72/EC-relating to plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs [J]. Official Journal of the European Union, 2002, L220/18-57
- [6] GB/T 5009.78-2003 食品包装用原纸卫生标准的分析方法
GB/T 5009.78-2003 Method for analysis of hygienic standard of papers for food packaging[S]
- [7] 谭曜,王群威,许迪明,等.塑料制品中荧光性增白剂定性定量测定方法的建立[J].塑料工业,2011,39(6):52-55
Tan Y, Wang Q W, Xu D M, et al. Establishment of qualitative and Quantitative of Fluorescent Whitening Agents in Plastics [J]. China Plastics Industry, 2011, 39(6):52-55
- [8] Santos M, Batlle R, Salafranca J, et al. Subcritical water and dynamic sonication-assisted solvent extraction of fluorescent whitening agents and azo dyes in paper samples [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1064(2): 135-141
- [9] 焦艳娜,丁利,朱绍华,等.高效液相色谱-荧光检测法测定食品接触材料塑料制品中荧光增白剂[J].色谱,2013,31(1): 83-87
Jiao Y N, Ding L, Zhu S H, et al. Determination of fluorescent whitening agents in plastic food contact materials by high performance liquid chromatography with fluorescence detector [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2013, 31(1): 83-87
- [10] 练习中,陈梅斯,郑丽斯,等.高效液相色谱法测定食品中荧光增白剂[J].现代食品科技,2011,27(10):1281-1284
Lian X Z, Chen M S, Zheng L S, et al. Determination of Fluorescent Whitening Agents in Food by HPLC [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(10): 1281-1284
- [11] 洗燕萍,郭新东,罗海英,等.固相萃取-超高效液相色谱分离测定洗涤用品中4种荧光增白剂[J].色谱,2013,31(2): 162-169
Xian Y P, Guo X D, Luo H Y, et al. Determination of four fluorescent whitening agents in laundry detergents by solid phase extraction combined with ultra-high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography [J]. 2013, 31(2): 162-169
- [12] Shu W C, Ding W H. Determination of fluorescent whitening agents in laundry detergents and surface waters by solid-phase extraction and ion-pair high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1088 (1): 218-223
- [13] Shu W C, Ding W H. Determination of Fluorescent Whitening Agents in Infant Clothes and Paper Materials by Ion-pair Chromatography and Fluorescence Detection [J]. Journal of the Chinese Chemical Society, 2009, 56: 797-803
- [14] Chen H C, Wang S P, Ding W H. Determination of fluorescent whitening agents in environmental waters by solid-phase extraction and ion pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1102 (1-2): 135-142
- [15] Chen H C, Ding W H. Hot-water and solid-phase extraction of fluorescent whitening agents in paper materials and infant clothes followed by unequivocal determination with ion-pair chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1108(2): 202-207
- [16] Santos M, Nerin C, Domeño C, et al. The Analysis of Fluorescent Whitening Agents Using Reversed - Phase HPLC and Mass Spectrometry [J]. LCGC NORTH AMERICA, 2004, 22: 550-560

现代食品科技