

LC-MS/MS法测定发泡塑料餐具中5种荧光增白剂

杜志峰^{1,2,3}, 洗燕萍¹, 刘付建⁴, 黄金凤¹, 吴玉奎¹, 郭新东¹, 王永华³, 罗东辉¹

(1. 广州市质量监督检测研究院, 广东广州 510110) (2. 爱博才思亚太应用支持中心, 上海 200233)

(3. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (4. 广东产品质量监督检验研究院, 广东广州 510330)

摘要: 建立了高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法 (HPLC-MS/MS) 同时测定发泡塑料餐具中 5 种荧光增白剂 (FWA135、FWA184、FWA367、FWA368、FWA393) 的方法。样品以三氯甲烷溶解提取, 加入甲醇使基质沉淀, 提取液氮吹浓缩, 使用 PHENOMENEX KINETEX C18 色谱柱, 0.1% 甲酸甲醇-0.1% 甲酸水为流动相进行梯度洗脱分离, 采用串联质谱 ESI 正模式电离, 多反应监测 (MRM) 模式检测, 以保留时间及离子对比较定性, 外标法定量。结果表明, 5 种荧光增白剂在 0.5~50 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好, 相关系数大于 0.995, 仪器检出限 ($S/N=3$) 为 0.1~0.5 $\mu\text{g/L}$, 方法定量限 ($S/N=10$) 为 0.4~2.0 $\mu\text{g/kg}$, 添加水平为 2、8、200 $\mu\text{g/kg}$ 时, 样品的回收率在 86.4~98.4% 之间, 相对标准偏差 (RSD, $n=6$) 小于 3.9~8.1%。该法前处理简单、回收率高、精密性好, 适用于发泡塑料餐具中 5 种荧光增白剂的测定。

关键词: 高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法; 荧光增白剂; 发泡塑料餐具

文章编号: 1673-9078(2013)12-3014-3018

Determination of Five Fluorescent Whitening Agents in Foam Plastic Tableware by High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

DU Zhi-feng^{1,2,3}, XIAN Yan-ping¹, LIU Fu-jian⁴, HUANG Jin-feng¹, WU Yu-luan¹, GUO Xin-dong¹, WANG Yong-hua³, LUO Dong-hui¹

(1. Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 510110, China)

(2. AB SCIEX Asia Pacific Application Support Center, Shanghai 200233, China)

(3. College of Light Industry and Food Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(4. Guangdong Testing Institute for Product Quality Supervision, Guangzhou 510330, China)

Abstract: A simple and sensitive method has been developed for the simultaneous determination of five fluorescent whitening agents (FWA135, FWA184, FWA367, FWA368 and FWA393) in foam plastic tableware using high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The samples were extracted with trichloromethane, and the polymer in the extracts were precipitated by adding methanol. The separation of five FWAs was carried out on a Phenomenex kinetex C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 2.6 μm) by gradient elution with 0.1% formic acid methanol and 0.1% formic acid as mobile phase. Electrospray ionization mass was operated in the positive mode (ESI⁺) using multiple reaction monitoring (MRM) for the qualitative and quantitative analysis of five FWAs by retention time and ion ratio. The result indicated that the linear correlation coefficients ($r>0.995$) of five FWAs were obtained with the linear relationship between 0.5 to 50 $\mu\text{g/L}$. The limits of detection (LOD, $S/N=3$) were ranged from 0.1 $\mu\text{g/L}$ to 0.5 $\mu\text{g/L}$, and the limits of qualification of the method (MLOQ, $S/N=10$) were varied from 0.4 $\mu\text{g/kg}$ to 2.0 $\mu\text{g/kg}$. The recoveries of five FWAs from spiked samples at the spiking levels of 2 $\mu\text{g/kg}$, 8 $\mu\text{g/kg}$ and 200 $\mu\text{g/kg}$ were between 86.4% and 98.4% with RSD ($n=6$) less than 3.9% to 8.1%. The method was simple and precise for the determination of five FWAs in foam plastic tableware.

Key words: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; fluorescent whitening agents; foam plastic tableware

收稿日期: 2013-07-25

基金项目: 国家质检总局科技计划项目 (2012K074)

作者简介: 杜志峰 (1979-), 男, 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: 郭新东 (1976-), 男, 博士, 教授级高工, 研究方向为食品及食品相关产品分析技术研究

荧光增白剂 (Fluorescent whitening agents, FWA) 是一种荧光染料, 能够吸收不可见的紫外光后再激发出可见的蓝色或蓝紫色荧光的有机化合物^[1]。广泛用于纺织品、纸张、涂料、洗涤用品和塑料制品等多个领域, 以提高基体的白度和保证基体的亮度^[2-3]。2010年8月, 在国际食品包装协会的配合下, 央视经济频道《消费主张》栏目以《垃圾如何变餐具》为题, 报道了部分企业用废旧塑料添加荧光增白剂后, 加工成一次性发泡塑料餐具, 并以每月数亿个的数量流入市场, “荧光增白剂”问题上成为人们食品接触性材料安全性关注的焦点。荧光增白剂使用安全性上颇有争议^[3-4], 美国、欧盟和中国等国家规定了相关的限量和/或特定迁移量^[4-7]。因此, 建立发泡塑料餐具中荧光增白剂的快速、准确的检测方法, 有利于对发泡塑料餐具中可能存在的违禁添加和超量使用荧光增白剂的行为进行监管。

目前, 国内外关于洗涤用品、食品、塑料制品和纸制品等基质中FWAs含量的检测方法已有报道^[8-16], 采用的方法主要有高效液相色谱-荧光检测法^[7-8]、固相萃取-超高效液相色谱-紫外测定法^[10]、离子对试剂-高效液相色谱-荧光检测法^[11]、液相色谱串联三重四极杆质谱法 (LC-MS/MS) ^[12-14]。其中, 液相色谱法只能依靠化合物的保留时间和光谱定性, 但都易受杂质干扰; LC-MS/MS法采用保留时间与特征离子对比例对已知目标物进行定性和定量分析^[15-16], 准确性和灵敏度优势明显。现有的报道中尚未见发泡塑料餐具中FWAs的检测研究。因此, 本研究以发泡塑料餐具为研究对象, 研究了5种FWAs (见图1) 的提取、色谱分离和质谱定性定量的条件, 建立了LC-MS/MS检测方法。本方法操作简单、可靠, 能满足现有国内外限量的要求。

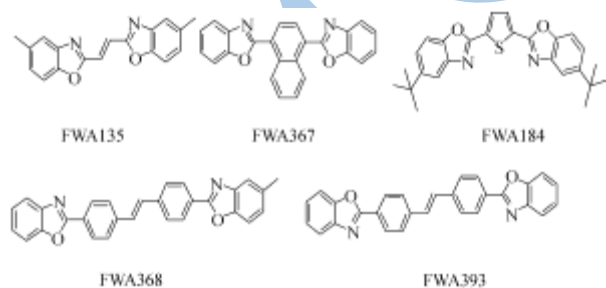


图1 5种FWAs的化学结构图

Fig.1. Chemical structures of five FWAs

1 材料与方

1.1 仪器与设备

SHIMADZU-20AT 高效液相色谱仪系统 (日本 SHIMADZU 公司); Qtrap 4000 三重四极杆串联质谱仪 (美国 AB 公司); MS3 basic 漩涡混合器 (德国 IKA 公司); Milli-Q 去离子水发生器 (美国 Millipore 公司); N-EVAP 112 水浴氮吹仪 (美国 OA 公司)。

1.2 材料与试剂

5种FWAs标准品: FWA 184、FWA 367、FWA 368和FWA 393 (梯希爱 (上海) 化成工业发展有限公司), FWA 135 (International laboratory U.S.A) 均购于上海安谱公司; 甲醇 (HPLC级, 德国 Merck 公司)、甲酸 (HPLC级, 德国 CNW 公司), 三氯甲烷 (A.R, 广州化学试剂厂), 实验用水为自制去离子水。

试验样品为发泡塑料餐具 (发泡饭盒和杯), 均购于本地市场。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的制备

FWAs 标准储备溶液 (100 μg/mL): 准确称取各FWAs 准品 0.1000 g 于 100 mL 棕色容量瓶中, 用三氯甲烷溶解并定容, -20 °C 冰箱保存。

根据需要用按 1.3.2 步骤处理得到的阴性样品基质溶液配成不同浓度的基质匹配 FWAs 混合校准工作液系列, 现配现用。以基质匹配校准工作曲线进行定量。

1.3.2 试样处理

准确称取 0.25 g (精确至 0.001 g) 已剪碎 (5 mm × 5 mm) 混匀的样品置于 10 mL 玻璃离心管中, 加入 5 mL 三氯甲烷, 于漩涡混合器上漩涡溶解提取 1 min。加入 3 mL 甲醇, 漩涡混合提取液, 基质析出后, 以 3000 r/min 的速率离心, 吸取上层清液置于氮吹管中, 40 °C 恒温水浴氮吹至干。准确加入 1.0 mL 甲醇复溶, 漩涡摇匀, 过 0.22 μm 有机滤膜, 待 HPLC-MS/MS 测定。

1.3.3 仪器操作条件

色谱柱: PHENOMENEX KINETEX C18, 2.1 mm × 100 mm, 2.6 μm; 流动相: A. 0.1% 甲酸甲醇, B. 0.1% 甲酸水 (V/V), 梯度洗脱程序: 0.0~4.0 min, 60%~100% A, 4.0~7.0 min, 100% A, 7.0~7.1 min, 100%~60% A; 7.1~10.0 min, 60% A; 流速: 0.4 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样量: 10 μL。

质谱条件: ESI正离子模式; 检测模式: 多反应监测 (MRM) 模式; 电离电压 (IS) 5500 V; 雾化气 (GAS1) 55 PSI; 辅助加热气 (GAS2) 55 PSI; 辅助加热气温度 (TEM) 550 °C; 5种FWAs的监测离子对及其丰度比、

锥孔电压、碰撞能等见表1。

表 1 5 种 FWAs 的质谱分析条件

Table 1 MS parameters for the analysis of 5 FWAs

Compound	Cas No.	Precursor ion/(m/z)	Daughter ion/(m/z)	DP /V	CE /V	Dwell time /ms	RT /min
1,2-Bis(5-methyl-2-benzoxazole) ethylene, FWA 135	1041-00-5	291.1	158.2*	115	39	40	3.56
			107.1	115	46	40	
4,4'-Bis(2-benzoxazolyl) stilbene, FWA 393	1533-45-5	415.2	321.2*	150	56	40	4.45
			207.1	150	52	40	
1,4-Bis(2-benzoxazolyl) naphthalene, FWA 367	5089-22-5	363.2	270.1*	145	47	40	4.43
			244.1	145	54	40	
4-(2-Benzoxazolyl)-4'-(5-methyl-2-benzoxazolyl) stilbene, FWA 368	5242-49-9	429.2	321.1*	160	55	40	4.64
			221.0	160	52	40	
2,5-Bis(5'-tert-butyl-2-benzoxazolyl) thiophene, FWA 184	7128-64-5	431.2	415.2*	180	59	40	5.01
			401.2	180	58	40	

注：*为定量离子。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

发泡塑料餐具是由发泡苯乙烯制成的，易溶于丙酮、乙酸乙酯、苯、二氯乙烷、氯仿等有机溶剂。试验对比了这5种溶剂的提取效果。在1个含有FWA184和FWA393的样品中，添加FWA135、FWA367和FWA368标准品，分别用上述5种溶剂进行涡旋提取，计算提取回收率，实验结果如图2所示。可见，氯仿的提取回收率整体最好，这是因为氯仿对5种FWAs的溶解性最好，而其余4种有机溶剂对FWA368和FWA393的溶解度较低的原因，故本试验选用氯仿作为提取溶剂。

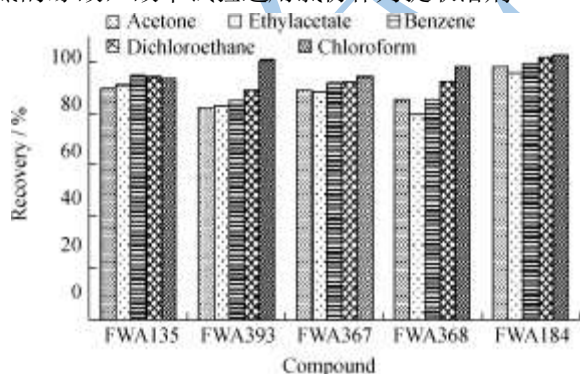


图2 不同提取剂的提取效果对比

Fig.2 Compared of the effect of different extraction solvent

提取时，发泡塑料餐具中的待测物和高分子聚合物等杂质也同时溶解于氯仿中，在反相色谱中，甲醇、乙腈和水等反相流动相会使这些高分子聚合物杂质在体系中的溶解度降低而析出，从而可能会堵塞色谱柱或管路，干扰检测。因此，试验选用甲醇作为提取溶

液中高分子聚合物的析出剂，通过在涡旋振荡下缓慢滴加甲醇的操作，使高分子聚合物逐渐析出，可避免将待测物包裹于胶状析出物中，提高提取效率。

2.2 仪器分析条件的优化

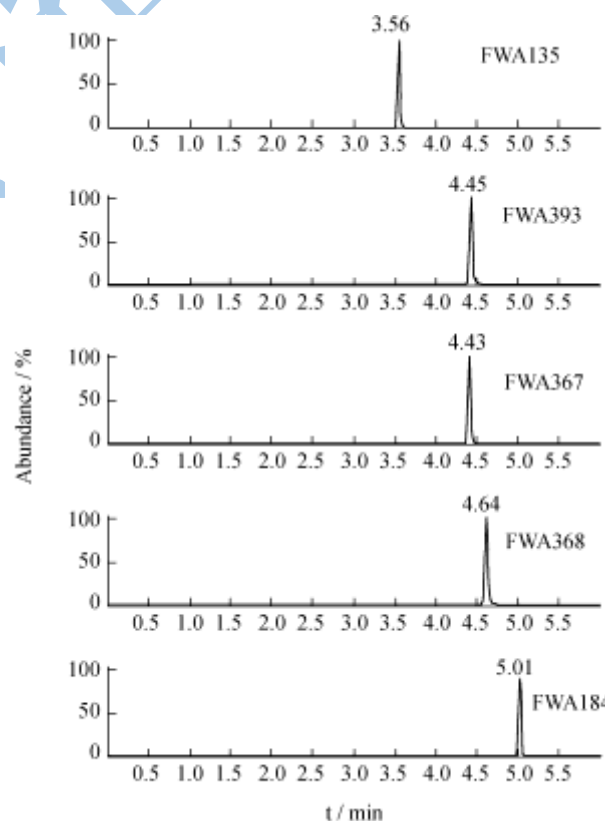


图 3 5 种 FWAs 标准溶液的 MRM 色谱图

Fig.3 Selected ion chromatograms of standards of 5 FWAs

使用流动相和蠕动泵分别将5种目标物注入质谱中，分别在全扫描模式(Q1)和子离子扫描模式(MS2)

下获得化合物的母、子离子对, 优化去簇电压 (DP)、入口电压 (EP)、碰撞能量 (CE)、出口电压 (CXP) 等质谱参数, 使每种化合物的离子对的强度达到最大。5种化合物的质谱主要参数见表1。

质谱参数优化表明5种目标物在ESI⁺模式下产生明显的[M+H]⁺, 故在流动相中加入甲酸以提供H⁺, 提高响应值。为了使5种待测物能够较好分离, 尽量减少共流出时的竞争抑制, 本文采用梯度洗脱分离。但由于5种待测物的极性较弱, 在C18上保留时间较长, 需要在100%纯有机相下才可完成洗脱分离, 因此, 为了使流动相体系在纯有机相时间段仍可保持在一个稳定的酸性环境, 本实验采用0.1% 甲酸甲醇-0.1% 甲酸水作为流动相, 并优化得到1.3.3的梯度洗脱程序。在此条件下, 5种目标化合物获得了良好的分离度、稳定性和最高的响应值。

在优化好的仪器条件下, 5种荧光增白剂标准溶液的提取离子色谱图如图3所示。

2.3 线性关系、检出限和定量限

配制一系列浓度范围为0.5、1、5、10、20、50 μg/L 样品基质混合校准溶液, 按照1.3.3的条件进行测定, 以各待测组分的定量离子峰面积对相应浓度绘制标准曲线。结果表明, 在0.5~50 μg/L浓度范围内, 标准曲线的相关系数均大于0.995, 表明线性关系良好; 5种待测物的仪器检出限 (ILOD, 以S/N=3计) 为0.1 μg/L~0.5 μg/L, 根据S/N=10计算仪器定量限, 并结合前处理稀释倍数 (4倍), 得到方法定量限 (MLOQ) 为0.4 μg/kg~2.0 μg/kg, 方法具有较高的灵敏度。各种待测物的相关系数、仪器检出限及方法定量限见表2。

表2 待测物基质标准曲线的相关系数、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

Compounds	Correlation coefficients	ILOD / (μg/L)	MLOQ / (μg/kg)
FWA135	0.9992	0.1	0.4
FWA393	0.9986	0.2	0.8
FWA367	0.9958	0.2	0.8
FWA368	0.9973	0.5	2.0
FWA184	0.9988	0.2	0.8

2.4 方法回收率和精密度

在阴性发泡塑料餐具样品中添加 2、8、200 μg/kg

三种不同浓度水平的 5 种 FWAs 混合标准溶液, 按本实验方法进行的回收实验, 每个添加水平平行测定 6 次, 方法回收率和相对标准偏差 (RSD) 见表 3。结果表明, 5 种 FWAs 平均回收率为 86.4~98.4%, 相对标准偏差为 3.9~8.1%, 表明方法的准确度和精密度满足分析的要求。

表3 5种目标物的方法回收率和精密度 (n=6)

Table 3 The method recovery and precision for five compounds

Compound	Added / (μg/kg)	Recovery (n=6)	
		Mean/%	RSD/%
FWA135	2	94.1	7.1
	8	93.3	6.8
	200	95.9	5.7
FWA393	2	86.7	3.9
	8	88.6	7.8
	200	92.1	4.2
FWA367	2	93.0	6.8
	8	98.4	5.1
	200	93.3	8.1
FWA368	2	96.4	5.2
	8	92.6	6.9
	200	86.4	4.2
FWA184	2	91.5	6.2
	8	88.7	5.3
	200	93.4	4.8

2.5 实际样品的检测

采用本方法检测了本地市场购买的20种发泡塑料餐具样品, 其中有4个样品呈阳性, 2个样品均检出限用的FWA393和FWA184, 2个样品只检出FWA184, FWA393的含量分别为376 μg/kg和657 μg/kg, FWA184的含量在30 μg/kg~200 μg/kg之间, 均未超出限量值; 其余样品均未检出所测5种荧光增白剂。

3 结论

建立了发泡塑料餐具中 5 种荧光增白剂的高效液相色谱-质谱/质谱检测方法。本文的前处理简单、高效、快速, 使用 HPLC-MS/MS 液质联用仪的 MRM 模式检测, 以保留时间和特征离子对比例定性, 峰面积外标法定量。方法具有前处理简单、干扰少、回收率高、精密度好等优点, 适用于发泡塑料餐具中 5 种荧光增白剂定性定量分析。

参考文献

[1] Hussain M, Shamey R, Hinks D, et al. Synthesis of novel

- stilbene-alkoxysilane fluorescent brighteners, and their performance on cotton fiber as fluorescent brightening and ultraviolet absorbing agents [J]. *Dyes and Pigments*, 2012, 92(3): 1231-1240
- [2] 张仕飏,景志坤.荧光增白剂及其在白色塑料制品中的应用[J].塑料科技,1998,10(5):8-10
Zhang S B, Jing Z K. Application of fluorescent whitening agent in white plastic products [J]. *Plastics Science and Technology*, 1998, 10(5):8-10
- [3] 董仲生.荧光增白剂的实用性和经济性及其对人与环境的影响[J].中国洗涤用品工业,2011,5:25-35
Dong Z S. Practicality and economy of FWA and its influence upon human and environment [J]. *China Cleaning Industry*, 2011, 5: 25-35
- [4] Mishra H, Zhang Y X, Geddes C D. Metal enhanced fluorescence of the fluorescent brightening agent Tinopal-CBX near silver island film [J]. *Dyes and Pigments*, 2011, 91(2): 225-230
- [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 Communities*, 2002, L 220/18- L 220/58
- [6] Code of Federal Regulations. Sec. 178.3297 Colorants for polymers, <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=178.3297>, 2013
- [7] 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]
- [8] 吴钟玲,陈树东,林晓佳,等.高效液相色谱法测定食品包装材料聚苯乙烯中的9种荧光增白剂[J].现代食品科技,2013, 29(11):2757-2761
Wu Z L, Chen S D, Lin X J, et al. Determination of nine Fluorescent whitening agents in polystyrene food packaging material by high performance liquid chromatography [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29 (11) : 2757-2761
- [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] 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剂中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*, 2013, 31(2): 162-169
- [11] 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
- [12] 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
- [13] 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
- [14] 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
- [15] 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
- [16] 刘峻,李军,李建中,等.液相色谱-串联质谱法分析爆米花桶水浸泡液中的荧光增白剂[J].中国造纸 2013,32(3):30-34
Liu J, Li J, Li J Z, et al. Analysis of fluorescent substance migration of popcorn cup by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method [J]. *China Pulp & Paper*, 2013, 32(3): 30-34