

微波辅助萃取-超高效液相色谱法同时测定纸质食品接触材料中 18 种多环芳烃

王成云, 麦家超, 廖清萍, 阮莹花, 沈雅蕾, 谢堂堂*

(深圳出入境检验检疫局工业品检测技术中心, 广东深圳 518067)

摘 要:建立了微波辅助萃取-超高效液相色谱(MAE-UPLC)法同时测定纸质食品接触材料中 18 种多环芳烃(PAHs)。在信噪比(S/N)为 3 的条件下, 18 种 PAHs 的检出限为 0.02 ~ 0.1 mg/kg。该方法简便快捷、定性定量准确、灵敏度高, 适用于纸质食品接触材料中多环芳烃的同时测定。

关键词:微波辅助萃取; 超高效液相色谱法; 多环芳烃; 纸质食品接触材料

中图分类号: O657.7⁺2

文献标识码: A

文章编号: 1006-6144(2014)04-549-05

纸质食品接触材料是一类绿色环保的新型包装材料, 其原料是纸和纸基复合材料, 但造纸原料和生产过程中均可能会受到多环芳烃(PAHs) 等有毒有害物质的污染。该材料当与食品接触时, 这些有毒有害物质会迁移到食品中, 造成食品污染^[1]。PAHs 具有致癌、致突变性和致畸变性, 难降解, 因此大多数国家均将其列为重点监测对象。欧盟 REACH 法规全面禁止在消费品中使用 PAHs。对于食品接触材料, 要求苯并[a] 芘含量和 PAHs 总量均不得超过 0.2 mg/kg。对于 PAHs 的测定, 已有许多文献报道^[2-9], 但尚未见文献报道对纸质食品接触材料中的 PAHs 进行测定。

微波辅助萃取(MAE) 是一种快速、高效的萃取技术^[10], 超高效液相色谱(UPLC) 具有分离效果好的优点^[11]。本文建立了 MAE-UPLC 方法, 该法可同时测定纸质食品接触材料中 18 种禁用 PAHs。

1 实验部分

1.1 仪器及工作条件

Shimadzu LC-20AD 型高效液相色谱仪(日本, Shimadzu 公司), 配 PDA 检测器和 Inertsil ODS-P 色谱柱(150 × 2.1 mm, 3.0 μm)。色谱条件如下: 柱温为 50 °C, 进样量为 1.0 μL, 梯度淋洗程序见表 1, 检测波长见表 3。ETHOSI 型微波萃取仪(意大利, Milestone 公司)。

表 1 淋洗梯度

Table 1 Gradient elution

Time(min)	Acetonitrile(%)	Water(%)	Flow rate(mL/min)	Gradient mode
0.00	50	50	0.5	—
14.00	71	29	0.5	linear
14.01	71	29	0.3	—
34.00	73	27	0.3	linear
34.01	50	50	0.5	—
35.00	50	50	0.5	—

收稿日期: 2013-08-19

修回日期: 2013-10-07

基金项目: 国家认监委科研制标项目(No. 2011B431)

* 通讯作者: 谢堂堂, 男, 博士, 高级工程师, 研究方向为轻纺产品中有毒有害物质的检测。

1.2 试剂

18 种 PAHs 混标由 o2si smart solutions 公司提供,其浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$,使用时,用乙腈逐级稀释至所需浓度。正己烷、丙酮、二氯甲烷、甲醇、环己烷、四氢呋喃、石油醚、二甲亚砜均为分析纯,由广州化学试剂厂提供;乙腈为色谱纯,由 Merck 公司提供;水为 Millipore 超纯水。

1.3 样品前处理

将样品剪碎混匀后,准确称取 1.0 g 样品,置于微波萃取管中,加入 15 mL 溶剂,涡流振荡 2 min,在 90 $^{\circ}\text{C}$ 下微波萃取 30 min。冷却至室温后,收集萃取液。残渣再用 15 mL 溶剂萃取。合并两次萃取液,旋转蒸发至近干,再用氮气缓慢吹干。用 10 mL 环己烷溶解残渣后,转移至 125 mL 分液漏斗中,用 10 mL 经环己烷饱和的二甲亚砜萃取两次,合并二甲亚砜相。加入 40 mL 4% 氯化钠溶液,用 10 mL 环己烷反萃取两次,合并环己烷相,用 70 $^{\circ}\text{C}$ 的 4% 氯化钠溶液洗涤两次后,旋转蒸发至近干,再用氮气吹干。用正己烷定容至 2 mL,再用已经 5 mL 正己烷活化的硅胶小柱净化。过柱后,弃去流出液。然后用 5 mL 正己烷-二氯甲烷(体积比 3 : 2)淋洗,收集淋洗液并用氮气吹至近干,用 2 mL 乙腈定容,进行液相色谱分析。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的确定

对 18 种 PAHs 的色谱分离条件进行优化,最后采用的色谱条件见 1.1 节。在此条件下,18 种 PAHs 均得到很好的分离,且各谱峰峰形尖锐,峰形对称性好,其谱图见图 1。

2.2 前处理条件的选择

2.2.1 萃取条件的确定 微波辅助萃取的效率主要取决于萃取溶剂种类、萃取时间、萃取压力和萃取温度,而萃取溶剂种类则是决定性的因素。通常情况下,萃取温度设定为比萃取溶解溶剂的沸点高约 10 ~ 20 $^{\circ}\text{C}$ 。萃取溶剂的体积一般占萃取管总体积的 1/3,萃取溶剂种类和萃取温度确定后,萃取压力也随之确定。本实验中萃取管材料为聚四氟乙烯,可耐 50 个大气压的压力和 260 $^{\circ}\text{C}$ 的高温,因此萃取温度设定为比萃取溶剂沸点高约 20 $^{\circ}\text{C}$ 。微波萃取效率随萃取时间的增加会稍微增加,一般情况下,当萃取时间为 10 ~ 15 min 就可以保证良好的萃取效果。为确保萃取效果,本文选择的萃取时间为 30 min。

在选择萃取溶剂时,必须综合考虑溶剂的微波吸收特性、目标分析物在溶剂中的溶解度以及溶剂与基质间的相互作用。不同的溶剂的萃取效率相差极大。为了确定合适的萃取溶剂,选择甲醇、正己烷 / 丙酮(1 : 1)、正己烷 / 二氯甲烷(1 : 1)、丙酮、丙酮 / 二氯甲烷(1 : 1)、丙酮 / 甲醇(2 : 1)、二氯甲烷、环己烷、四氢呋喃、石油醚 10 种常见溶剂作为萃取溶剂。不同萃取溶剂的萃取效果见表 2。结果表明,在相同的萃取条件下,正己烷 / 二氯甲烷(1 : 1)的萃取效果最好,与其他溶剂相比,测得待测物的含量最高。因此本文选择正己烷 / 二氯甲烷(1 : 1)为萃取溶剂。

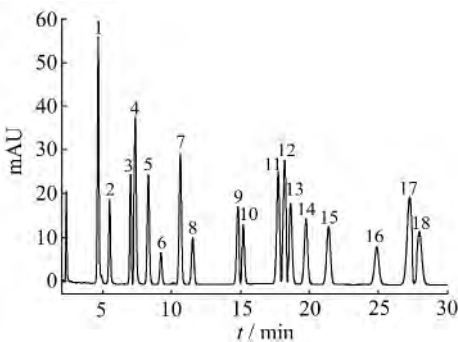


图 1 18 种 PAHs 混合标准溶液的色谱图
Fig.1 UPLC chromatogram of a mixed solution of 18 PAHs standards
peak No. the same as those in Tab.3.

表 2 不同萃取溶剂的萃取效果(mg/kg)

Table 2 Extraction effects of different solvents(mg/kg)

Extraction solvent	PAH-01	PAH-04	PAH-05	PAH-06	Extraction solvent	PAH-01	PAH-04	PAH-05	PAH-06
Hexane/acetone(1 : 1)	0.3	11.4	16.5	135.2	Methanol	0.3	11.6	16.8	138.5
Hexane/dichrolomethane(1 : 1)	0.5	17.2	24.0	201.4	Acetone	0.3	11.8	16.9	139.2
Acetone/dichloromethane(1 : 1)	0.3	11.1	15.9	129.8	Cyclohexane	0.4	13.8	19.3	167.8
Acetone/methanol(2 : 1)	0.2	8.4	11.6	98.7	Tetrahydrofunan	0.4	14.3	20.1	172.3
Dichloromethane	0.3	8.9	12.5	106.4	Petroleum ether	0.1	5.2	7.4	61.6

2.2.2 样品前处理条件的确定 除固相萃取柱净化步骤外,样品前处理均参照文献[12]进行。样品经

洗涤后,尚残留有少量杂质,需采用固相萃取柱进一步净化。固相萃取柱对 PAHs 有一定吸附,会导致损失部分 PAHs。分别采用 AccuBond Florisil 反相柱、AccuBond 中性氧化铝柱、Anpelclean 聚酰胺柱、Suplco LC-C₁₈ 柱、Waters Sep-Pak Vac 柱、Suplco LC-Florisil 柱、CNW Bond LC-C₁₈ 柱、Agilent Bond Elut C₁₈ 柱、Supelclean LC-Si 硅胶柱、Agilent Chem Elut 柱 10 种固相萃取柱对 18 种 PAHs 混标溶液进行测试,结果发现 Supelclean LC-Si 硅胶柱的效果最好,每种 PAHs 的回收率均在 93% 以上。因此选择 Supelclean LC-Si 硅胶柱来进行净化。

2.3 工作曲线和检出限

用不含目标分析物的白纸的萃取液作为空白基质,在空白基质中加入混合标准溶液,逐级稀释,配成 11 个不同浓度的混合标准溶液,按照建立的方法进行测定。结果发现,18 种 PAHs 在各自的质量浓度范围内,其峰面积(y)与质量浓度($x, \mu\text{g/mL}$)之间存在良好的线性关系,相关系数均大于 0.9999。以信噪比(S/N)为 3 计算各组分的检出限为 0.02 ~ 0.1 $\mu\text{g/g}$,见表 3。

表 3 18 种 PAHs 的线性关系和检出限

Table 3 Linear relationship and detection limits of 18 PAHs

Code	Compound	Wavelength (nm)	Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	Linear equation	Correlation coefficient	Detection limit ($\mu\text{g/g}$)
PAH-01	Naphthalene	220	0.05-99.67	$y = 22089.0x + 770.0$	0.99995	0.02
PAH-02	Acenaphthylene	229	0.20-99.61	$y = 8775.3x - 1418.1$	0.99995	0.10
PAH-03	Acenaphthene	227	0.10-99.32	$y = 27522.0x + 1752.2$	0.99995	0.05
PAH-04	Fluorene	262	0.10-99.87	$y = 2737.0x + 1752.2$	0.99995	0.05
PAH-05	Phenanthrene	251	0.10-100.00	$y = 12144.0x - 185.3$	0.99995	0.05
PAH-06	Anthracene	251	0.20-99.95	$y = 3533.6x - 602.5$	0.99995	0.10
PAH-07	Fluoranthene	235	0.10-99.76	$y = 14392.0x + 398.8$	0.99995	0.05
PAH-08	Pyrene	248	0.20-100.00	$y = 5199.1x - 363.0$	0.99995	0.10
PAH-09	Benzo[a]anthracene	287	0.20-99.57	$y = 7908.0x - 1787.1$	0.99990	0.10
PAH-10	Chrysene	267	0.20-99.36	$y = 5615.4x + 2296.8$	0.99995	0.10
PAH-11	Benzo[j]fluoranthene	241	0.10-100.70	$y = 12805.0x + 1784.5$	0.99995	0.05
PAH-12	Benzo[e]pyrene	204	0.10-99.40	$y = 15178.0x + 2275.6$	0.99995	0.05
PAH-13	Benzo[b]fluoranthene	256	0.20-100.00	$y = 10293.0x + 353.2$	0.99995	0.10
PAH-14	Benzo[k]fluoranthene	248	0.20-99.40	$y = 8802.1x + 832.3$	0.99995	0.10
PAH-15	Benzo[a]pyrene	264	0.20-100.10	$y = 8814.3x - 779.0$	0.99995	0.10
PAH-16	Dibenz[a,h]anthracene	296	0.20-99.12	$y = 6731.0x + 506.9$	0.99995	0.10
PAH-17	Benzo[g,h,i]perylene	205	0.10-99.55	$y = 17559.0x + 1769.8$	0.99995	0.05
PAH-18	Indeno[1,2,3-cd]pyrene	250	0.20-99.95	$y = 10756.0x + 240.2$	0.99995	0.10

2.4 方法的精密度和回收率

选用不含目标分析物的白纸为空白样品,分别添加高、中、低 3 个浓度水平的混合标准溶液,每个浓度水平制备 9 份平行样,按 1.2 节进行前处理并测定,计算方法的平均回收率和精密度(RSD),结果见表 4。

表 4 空白样品中 18 种 PAHs 的加标回收率($n = 9$)

Table 4 Recoveries and precision of 18 PAHs spiked in blank samples($n = 9$)

Compound	Spiked(μg)	Recovery(%)	RSD(%)	Compound	Spiked(μg)	Recovery(%)	RSD(%)
PAH-01	1.99	57.98	4.73	PAH-10	1.99	91.20	3.73
	9.97	60.25	3.58		9.94	95.09	3.14
	39.87	64.01	2.68		39.74	92.03	1.66
PAH-02	1.99	71.51	4.80	PAH-11	2.01	87.22	3.82
	9.96	73.55	3.41		10.07	91.30	2.61
	39.84	71.88	2.87		40.28	90.16	1.89
PAH-03	1.99	70.71	4.60	PAH-12	1.99	89.74	3.90
	9.93	72.89	3.96		9.94	90.78	3.76
	39.73	71.81	2.53		39.76	93.13	1.99

(续表 4)

Compound	Spiked(μg)	Recovery(%)	RSD(%)	Compound	Spiked(μg)	Recovery(%)	RSD(%)
PAH-04	2.00	79.40	3.89	PAH-13	2.00	91.87	3.97
	9.987	81.51	3.30		10.00	95.46	2.98
	39.95	81.46	2.07		40.00	92.99	1.72
PAH-05	2.00	91.13	3.72	PAH-14	1.99	89.11	4.26
	10.00	93.56	2.89		9.94	91.62	3.54
	40.00	94.76	1.97		39.76	91.01	1.77
PAH-06	2.00	91.98	4.03	PAH-15	2.00	88.98	4.11
	10.00	91.09	2.78		10.01	89.85	3.65
	39.98	90.29	2.01		40.04	91.16	2.15
PAH-07	2.00	92.20	3.87	PAH-16	1.98	88.24	4.11
	9.98	92.45	2.98		9.91	92.82	3.64
	39.90	91.34	1.94		39.65	92.62	1.83
PAH-08	2.00	81.76	3.96	PAH-17	1.99	87.24	4.16
	10.00	82.92	3.94		9.96	91.31	3.40
	40.00	80.50	1.89		39.82	90.66	2.16
PAH-09	1.99	92.13	3.77	PAH-18	2.00	91.78	3.71
	9.96	91.40	3.57		10.00	92.04	3.39
	39.83	91.93	1.78		39.98	93.68	1.72

2.5 实际样品分析

采用本文建立的方法对 20 个纸质食品接触材料进行了测试,测试对象均购自市场,包括 5 种快餐包装纸盒、3 种方便面包装袋、6 种纸杯、6 种食品包装袋,结果在一个黄色包装纸袋中检出多种 PAHs,图 2 是其 UPLC 图。该样品中检出萘(PAH-01)、芴(PAH-04)、菲(PAH-05)、蒽(PAH-06)等 4 种 PAHs,其含量分别为 0.5、17.2、24.0、201.4 mg/kg。

3 结论

建立了一种可同时测定纸质食品接触材料中 18 种禁用 PAHs 的 MAE-UPLC 分析方法。该方法以正己烷 / 二氯甲烷(体积比 1 : 1)为萃取溶剂,采用微波辅助萃取技术萃取纸质食品接触材料中的 PAHs,萃取液经二甲亚砜萃取-环己烷反萃取-硅胶柱净化处理后进行 UPLC 分析。方法选择性好,灵敏度高,简便快捷,定性定量准确。

参考文献:

[1] YUE Qing-qing(岳青青). East China Pulp & Paper Industry(华东纸业)[J],2011,42(4):61.
[2] YANG Fa-qing(杨发忠),SU Yong-qing(苏永庆). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J],2009,25(3):309.
[3] ZHANG Xiao-qian(张晓贤),ZHANG Li-jun(张丽君),ZHANG Zhan-en(张占恩). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J],2012,28(2):49.
[4] HE Li-fang(何立芳),ZHANG Zhu-sen(张著森),LIN Shui-dong(林水东),ZHANG Ru-ping(章汝平). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J],2013,29(4):501.
[5] Barcelo D,Oubina A,Salau J S,Perez S. Analytica Chimica Acta[J],1998,376:49.
[6] SN/T 2201-2008. Food Contact Materials-Auxiliary Materials-Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs) in Ink-Gas Chromatography/Mass Spectrometry(食品接触材料辅助材料油墨中多环芳烃的测定气相色谱-质谱联用法)[S].

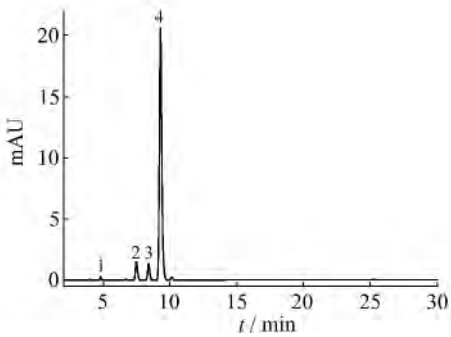


图 2 黄色包装纸袋萃取液的 UPLC 图
Fig.2 UPLC chromatogram of the extract from a sample of yellow paper packaging bag
1:PAH-01;2:PAH-04;3:PAH-05;4:PAH-06.

- [7] SN/T 2202-2008, Food Contact Materials-Wax-Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food Simulants(食品接触材料蜡食品模拟物中多环芳烃的测定)[S].
- [8] SN/T 2203-2008, Food Contact Materials-Wood Materials-Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food Simulants(食品接触材料木制品类食品模拟物中多环芳烃的测定)[S].
- [9] SN/T 2279-2008, Food contact Materials and Articles-Determination of PAHs in Plastics and Plastics Items-HPLC Method(食品接触材料塑料食品模拟物中多环芳烃的测定高效液相色谱法)[S].
- [10] LU Yan-fang(卢彦芳), ZHANG Fu-cheng(张福成), AN Jing(安 静), KANG Li-juan(康丽娟), JIANG Ye(蒋 晔). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J], 2011, 27(2): 246.
- [11] PING Li-feng(平立凤), LI Zhen(李 振), ZHAO Hua(赵 华), WU Min(吴 珉), ZHU Ya-hong(朱亚红), HU Xiu-qing(胡秀卿), ZHANG Chun-rong(张春荣). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J], 2011, 27(2): 235.
- [12] WANG Cheng-yun(王成云), YANG Zuo-jun(杨左军), LIU Li(刘 丽), YU Shu-yuan(余淑媛). Plastic Additives(塑料助剂)[J], 2007, (2): 40.

Simultaneous Determination of Eighteen Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Paper Packaging Materials Intended to Come into Contact with Foodstuffs Using Ultra High Performance Liquid Chromatography Combined with Microwave Assisted Extraction

WANG Cheng-yun, MAI Jia-chao, LIAO Qing-ping, RUAN Ying-hua,
SHEN Ya-lei, XIE Tang-tang*

(The Testing and Technology Center for Industrial Products, Shenzhen Entry-Exit
Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518067)

Abstract: An effective method was established for the simultaneous determination of 18 banned polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in paper packaging materials intended to come into contact with foodstuffs by ultra high performance liquid chromatography(UPLC) combined with microwave assisted extraction(MAE). The detection limits varied from 0.02 mg/kg to 0.1 mg/kg at the condition of signal to noise(S/N) = 3. The proposed method was simple, rapid, sensitive and accurate, applicable for the analysis of banned PAHs in paper packaging materials.

Keywords: Microwave assisted extraction(MAE); UPLC; PAHs; Paper packaging materials intended to come into contact with foodstuffs