

【论著】

高效液相色谱法同时测定食品包装水性模拟液中 二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮

王红松¹, 陈明², 汤礼军¹, 王宇¹, 钱江山¹, 舒溢¹, 李威¹

(1. 常州出入境检验检疫局, 江苏常州 213022 2 常州进出口工业及消费品安全检测中心, 江苏常州 213022)

[摘要] 目的: 探讨高效液相色谱法同时测定食品包装中二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮迁移量的方法。方法: 食品包装样品经水、10%乙醇(v/v)以及 3%乙酸(w/v) 3种食品模拟液提取后, 以 Agilent HC-C₁₈ 为分析柱, 乙腈/水(体积比 60:40)为流动相, UV 检测器, 进行定量分析。结果: 3种模拟液中的二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮在 0.2 mg/L~10 mg/L 范围内线性关系均良好($r \geq 0.99$), 检测限(S/N=3)在 0.031 mg/L~0.050 mg/L。两种目标物在 0.05 mg/L~10 mg/L 的 3个添加水平下, 平均回收率为 90.4%~98.5%, 相对标准偏差($n=6$)均小于 2.60%。结论: 本方法简单、快速、精确、灵敏度高, 完全能够满足食品包装的日常检验需要。

[关键词] 二苯甲酮; 4-甲基二苯甲酮; 食品包装; 高效液相色谱

[中图分类号] O657.7+2

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-8685(2011)02-0272-03

Simultaneous determination of benzophenone and 4-methyl benzophenone in aqueous food simulants of food packaging by high performance liquid chromatography

WANG Hong-song¹, CHEN Ming², TANG Li-jun¹, WANG Yu¹, QIAN Jiang-shan¹, SHU Yi¹, LI Wei¹

(1. Changzhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau Changzhou 213022, China 2. Changzhou Testing and Technical Center of Industrial and Consumable Product Changzhou 213022, China)

[Abstract] **Objective** To develop a method for simultaneous determination of benzophenone and 4-methyl benzophenone in aqueous food simulants of food packaging by using high performance liquid chromatography. **Methods** The samples were extracted by distilled water, 10% (v/v) ethanol aqueous solution or 3% (w/v) acetic acid aqueous solution. The extract was separated on a C₁₈ analytical column with a mixture of acetonitrile-water (60:40 by volume) detected by ultraviolet detector. **Results** The limit of detection (S/N=3) for benzophenone and 4-methyl benzophenone in three aqueous food simulants was 0.031 mg/L~0.050 mg/L with a good linear correlation ($r \geq 0.99$) in the range of 0.2 mg/L~10 mg/L. The mean recoveries of the two compounds at the spiked level of 0.05 mg/L~10 mg/L were 90.4%~98.5%, with the relative standard deviation less than 2.60%. **Conclusion** The method was simple, rapid, accurate and which can satisfy the inspection of benzophenone and 4-methyl benzophenone in food packaging.

[Key words] Benzophenone; 4-methyl benzophenone; Food packaging; High performance liquid chromatography

色彩丰富的食品包装在给我们生活带来极大方便的同时, 其表面印刷油墨却成为食品污染的潜在来源^[1-3]。相比传统的食品包装加工过程中, 为促进油墨干燥的速度而使用大量有机溶剂, 近年来紫外光固化技术由于其具有不使用有机溶剂, 附着力强等优点被广泛使用在塑料包装油墨的固化工艺中^[4]。但最近研究发现, 在油墨紫外光固化过程中, 残留的光引发剂(如二苯甲酮, 4-甲基二苯甲酮)可通过化学迁移污染食品包装所接触的食品, 对人体的健康造成潜在危

害^[5-7]。欧盟 2002/72/EC 指令明确规定食品包装中二苯甲酮的迁移量不得超过 0.6 mg/kg^[8]。2009年 4月欧盟食品和饲料快速预警系统(RASFF)通报了在早餐燕麦片中首次检测出 4-甲基二苯甲酮, 为此欧盟食物链和动物健康常务委员会(SCFCAH)于 2009年 5月进一步规定食品包装中 4-甲基二苯甲酮和二苯甲酮的总迁移量须低于 0.6 mg/kg^[9,10]。

目前, 我国对食品包装的监管依旧不够完善, 对食品包装中的二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮等有害物质既没有卫生标准, 也没有相应的检测方法标准。国内也无相关检测方法的研究报道。

因此, 以合适的模拟物代替食品, 对食品包装中二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮迁移量的测定显得非常有必要和有意义。本研究建立了使用高效液相色谱法同时测定食品包装水性食品模拟液中的二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮迁移量, 为检验检

[基金项目] 国家质量监督检验检疫总局科技计划资助项目(2009K203)和国家质量监督检验检疫总局科技计划资助项目(2010K198)

[作者简介] 王红松(1982-), 男, 硕士, 工程师, 主要从事食品接触材料的安全检测研究。

疫部门日常检验提供可靠的技术依据。

1 材料与与方法

1.1 仪器

美国 Agilent 1200 高效液相色谱, 配有紫外检测器及化学工作站; 德国 METTLER TOLEDD AG 285 分析天平; 美国 Millipore 超纯水器; 津腾微孔滤膜过滤器。

1.2 试剂

乙腈 (色谱纯, 德国 GmbH 公司); 实验用水为超纯水 (美国 Millipore 公司超纯水器制备); 乙醇 (分析纯); 冰乙酸 (优级纯); 二苯甲酮 (99%, Alfa Aesar 公司); 4-甲基二苯甲酮纯度 (99%, Alfa Aesar 公司)。

1.3 标准溶液的配制

标准储备液: 准确称取二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮标准品各 0.1 g 于 100 mL 容量瓶中, 精确至 0.0001 g 用乙腈定容至刻度, 摇匀配成 1000 mg/L 的标准储备溶液, 4°C 避光保存。

标准中间液: 取上述标准储备液适量, 用乙腈配成 10 mg/L 混合中间标准溶液, 4°C 冷藏避光保存。

标准工作液: 分别用水、10% 乙醇 (v/v) 以及 3% 乙酸 (w/v) 溶液稀释标准中间液, 得到系列标准工作液, 浓度分别为 0 mg/L, 0.2 mg/L, 0.4 mg/L, 0.6 mg/L, 0.8 mg/L, 1.0 mg/L, 该溶液用时现配。

1.4 样品处理

按照欧盟 82/711/EEC^[1] 的要求, 根据食品包装样品的实际使用条件和拟装食品的性质, 选择合适的水性模拟液、浸泡时间以及浸泡温度。按照 1 dm² 内表面积装入 100 mL 水性模拟液密封后, 进行浸泡。浸泡完成后, 取 2 mL 浸泡液, 过 0.45 μm 滤膜, 进高效液相色谱测定。

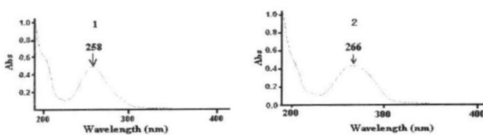
1.5 液相色谱条件

色谱柱: Agilent HC-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm (i.d.), 5 μm); 流动相: 乙腈-水 (60:40 v/v) 混合溶液; 流速 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 35°C; 检测波长: 0 min ~ 10 min 258 nm, 10 min ~ 15 min 266 nm。

2 结果与讨论

2.1 测定波长的选择

配制 10 mg/L 的二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮的水溶液进行紫外扫描。结果如图 1 所示, 二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮的紫外最大吸收分别在 258 nm 和 266 nm。为了提高两种目标物的检测灵敏度, 本研究采用在两种目标物出峰的时间段内, 取其各自的最大吸收波长作为检测波长。



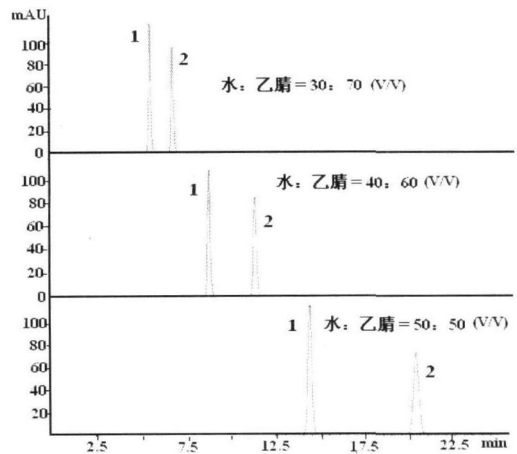
1 二苯甲酮; 2 4-甲基二苯甲酮

图 1 二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮水溶液的紫外光谱图

2.2 流动相的选择

考察了在不同流动相极性条件下, Agilent HC-C₁₈ 柱对二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮的色谱分离情况。结果如图 2 所示, 由于二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮都属于弱极性物质, 随

着流动相极性增大, 两种目标物在 C₁₈ 色谱柱上的保留时间延长, 分离度增加。当水和乙腈的体积比为 40:60 时, 两种目标物的分离度适中, 分析时间也较短, 完全满足色谱分析的要求。



1 二苯甲酮; 2 4-甲基二苯甲酮

图 2 10 mg/L 混合中间标准溶液在不同极性流动相下的色谱图
2.3 标准曲线

将 3 种模拟液的标准工作液 (浓度分别为 0 mg/L, 0.2 mg/L, 0.4 mg/L, 0.6 mg/L, 0.8 mg/L, 1.0 mg/L, 10 mg/L) 依次从低浓度到高浓度, 按照“1.5 液相色谱条件”进行 HPLC 分析, 每个浓度平行测定两次, 将峰面积的平均值与所对应的标准溶液浓度作线性回归。结果如表 1 和表 2 所示, 两种目标物的 3 种模拟物标准工作溶液在 0.2 mg/L ~ 10.0 mg/L 的范围内线性都很好。将 3 种模拟物的标准工作溶液逐级稀释, 以 3 倍信噪比 (S/N = 3) 确定方法的检测限。两种目标物在 3 种模拟物中的检测限见表 1 和表 2。

表 1 二苯甲酮 3 种模拟物标准溶液的线性回归方程、相关系数及检测限

模拟物	线性回归方程	相关系数 (r)	检测限 (mg/L)
水	$y = 115.31x + 3.4308$	0.9999	0.031
10% 乙醇水溶液	$y = 116.99x + 0.2654$	0.9999	0.043
3% 乙酸水溶液	$y = 115.49x + 1.8749$	0.9999	0.045

表 2 4-甲基二苯甲酮 3 种模拟物标准溶液的线性回归方程、相关系数及检测限

模拟物	线性回归方程	相关系数 (r)	检测限 (mg/L)
水	$y = 104.87x + 3.7165$	0.9999	0.042
10% 乙醇水溶液	$y = 107.17x + 0.122$	0.9999	0.050
3% 乙酸水溶液	$y = 105.02x + 2.4464$	0.9999	0.050

2.4 方法的回收率和精密度

采用经测定不含二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮的塑料复合包装袋为空白样品, 3% 乙酸 (w/v) 为食品模拟液, 分别进行 (下转第 276 页)

血型系统在人群中存在多态性^[8],其中 $Jk^* A$ 和 $Jk^* B$ 等位基因的频率分别为 0.49 和 0.51; 在 102 例汉族标本中 26 例为 $Jk(a+b-)$ 、28 例为 $Jk(a+b+)$ 、48 例为 $Jk(a-b+)$, 因此理论上人群中 Kidd 血型不相合概率较高。

已有报道 Kidd 血型系统抗体可引起输血反应和新生儿溶血病^[1], 因此进行非创伤性产前检测胎儿 Kidd 基因型具有重要的临床意义, 可以通过产前检测有效辅助新生儿溶血病的诊断, 从而进行相应的治疗。早已证实孕妇血浆或血清中含有胎儿 DNA, 这为非创伤性产前诊断提供了可靠的标本来源, 目前国外已报道利用产前非创伤性检测 RHD 基因有效预防和诊断 Rh 新生儿溶血病^[3,4]。本文我们根据 Kidd 血型 Jk^a/Jk^b 抗原编码序列的差异设计探针, 建立 RQ-PCR 技术检测 Kidd 血型基因型, 由于 $Jk(a-b-)$ 表型在第 838 位碱基可能为 G 或 A^[9], 所以本方法对 $Jk(a-b-)$ 表型存在极少误诊的可能, 但是 $Jk(a-b-)$ 在中国人群中十分罕见^[9]。由于孕妇外周血中 DNA 为母体和胎儿 DNA 的混合物, 为了保证抽提效果和检测结果的准确性, 我们利用 STR 多态性位点, 通过检测孕妇血浆 DNA 中胎儿父源等位基因, 来确认抽提的血浆 DNA 中存在胎儿 DNA, 从而保证检测结果的可靠性。由于孕妇血浆 DNA 为母体和胎儿的混合物, 因此本实验中我们建立的方法无法确定检测出的等位基因是来自母体 DNA 或胎儿 DNA, 但这在实际诊断中并不影响结果的判定。由于只有当孕妇缺乏胎儿特有的父源性抗原才会引起 HDN, 因此孕妇为 $Jk(a+b-)$ 或 $Jk(a-b+)$ 纯合子时, 胎儿才可能出现 HDN。理论上当 Kidd 血型抗原刺激母体产生 HDN 时, 母体的遗传背景肯定为纯合子, 因此检测出的对偶等位基因肯定来自胎儿 DNA, 为胎儿父源等位基因, 从而可以保证检测结果的判定可靠。

[参考文献]

- [1] Daniels G. Human blood groups (Blackwell Oxford) [M]. 2002 342-351
- [2] Lo YM, Corbett N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum [J]. Lancet 1997, 350(9076): 485-487.
- [3] Finning KM, Martin PG, Soothill PW, et al. Prediction of fetal D status from maternal plasma: introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service [J]. Transfusion 2002, 42(8): 1079-1085.
- [4] Daniels G, Finning K, Martin P, et al. Fetal blood group genotyping from DNA from maternal plasma: an important advance in the management and prevention of haemolytic disease of the fetus and newborn [J]. Vox Sang 2004, 87(4): 225-232
- [5] 何吉, 秦斐, 朱发明, 等. 实时荧光定量 PCR 检测孕妇血浆中的胎儿 RhCDe 基因 [J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(12): 1365-1366.
- [6] 何吉, 许先国, 傅启华, 等. 浙江畲族和汉族人群六个短串联重复序列位点遗传多态性的研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2003, 20(3): 250-252
- [7] Lucien N, Sidoux-walter F, Ollives R, et al. Characterization of the gene encoding the human Kidd blood group urea transporter protein. Evidence for splice site mutations in JK null individuals [J]. J Biol Chem, 1998, 273(21): 12973-12980
- [8] Yan LX, Zhu FM, Fu QH. JK(a-b-) and Kidd blood group genotypes in Chinese people [J]. Transfusion 2003, 43(2): 289-290.
- [9] 朱发明, 许先国, 洪小珍, 等. JK(a-b-) 表型分子机理的初步研究 [J]. 中国输血杂志, 2003, 16(4): 245-247.

(收稿日期: 2010-11-18)

(上接第 273 页)

添加回收率和精密度实验, 样品添加不同浓度的标准溶液, 在本方法的条件下进行高效液相色谱测定。结果如表 3 所示, 在低、中、高 3 个添加水平下 (每个添加浓度平行测定 6 次), 二苯甲酮回收率在 93.0% ~ 98.3%, 相对标准偏差为 0.83% ~ 2.56%; 4-甲基二苯甲酮回收率在 90.4% ~ 98.3%, 相对标准偏差为 0.98% ~ 1.87%。

利用本方法对送检的 10 种塑料包装袋进行了测定, 均未检测出二苯甲酮和 4-甲基二苯甲酮。

表 3 精密度和回收率实验 (n=6)

添加浓度 (mg/L)	平均测定值 (mg/L)		平均回收率 (%)		RSD (%)	
	二苯甲酮	4-甲基二苯甲酮	二苯甲酮	4-甲基二苯甲酮	二苯甲酮	4-甲基二苯甲酮
0.05	0.047	0.045	93.0	90.4	2.56	1.87
0.60	0.59	0.59	98.3	98.3	1.25	1.83
10	9.85	9.76	98.5	97.6	0.85	0.98

[参考文献]

- [1] 张岩, 王丽霞, 李挥, 等. 食品接触材料安全性研究进展与相关法规 [J]. 塑料助剂, 2009, 75(3): 16-18
- [2] 张莉. 食品包装印刷技术及安全卫生性分析 [J]. 印刷质量和标

准化, 2008(4): 63-66.

- [3] 黄沛力, 张磊, 张淑华, 等. 印刷包装行业 VOCs 污染对工人体内抗氧化指标的影响 [J]. 卫生研究, 2005, 34(6): 747-748
- [4] 陈月霞. 紫外光固化胶印油墨固化速度研究 [J]. 信息记录材料, 2006, 7(5): 12-18.
- [5] G Sagritini JM, aneş DG, Iardina Detemination of Isopropylthioxarathone (ITX) in Fruit Juices by Pressurized Liquid Extraction and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Y. Pico [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(26): 7947
- [6] WAC Anderson L Castle, Benzophenone in cartonboard packaging materials and the factors that influence its migration into food [J]. Food Addit Contam, 2003, 20(6): 607
- [7] 杜黎明, 许庆琴. 气相色谱法同时测定塑料食品包装袋中 4 种有机残留物 [J]. 分析化学, 1999, 27(3): 372
- [8] 欧盟 2002/72/EC. 委员会关于与食品接触的塑料材料和制品的指令 [S].
- [9] 欧盟食品和饲料类快速预警系统 RASFF 周报 [J]. 2009(13): 1-3.
- [10] 欧盟食物链和动物健康常务委员会会议结论 [Z]. 2009, (3): 12
- [11] 欧盟 82/711/EEC. 理事会关于与食品接触的塑料材料和制品的组分迁移检测的基本规定 [S].

(收稿日期: 2010-10-21)