

反向离子对色谱法同时测定食品纸塑包材中 3种荧光增白剂

安莹¹, 葛冬梅²

(1. 徐州工业职业技术学院, 江苏徐州 221140; 2. 徐州市质检所, 江苏徐州 221140)

摘要:建立了超声辅助提取-反相离子对高效液相色谱法同时检测纸塑食品包装材料中3种荧光增白剂: 荧光增白剂 28 (CBS)、荧光增白剂 85 (VBL)、荧光增白剂 220 (BBU) 的方法。利用单因素试验和正交试验确定3种荧光增白剂的提取条件。该方法具有良好的精密度和准确度, 符合常规检测要求。根据离子对试剂的作用原理, 将四丁基溴化铵水溶液反向离子对作流动相配合使用, 使研究对象中的3种荧光增白剂出峰时间大大延迟, 并得以有效分离, 提高了检测效率。以校园周边超市出售的奶茶、方便面、奶糖、牛奶等纸塑食品包装材为研究对象, 对其中的 CBS、VBL、BBU 等3种荧光增白剂进行测定, 结果10种样品中均检出 BBU, 未检出 CBS, 7种样品中检出 VBL。

关键词: 荧光增白剂; 离子对试剂; 液相色谱法; 食品包装材料

中图分类号: TQ016

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2017)01-0201-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2017.01.049

Simultaneous determination of three kinds of fluorescent whitening agents in food-paper-plastic packaging materials by reversed-ion pair chromatography

AN Ying, GE Dong-mei

(1. Xuzhou College of Industrial Technology, Xuzhou 221140, China;

2. Xuzhou Product Quality Supervision and Inspection Office, Xuzhou 221140, China)

Abstract: The combination of ultrasonic assisted extraction and reversed phase ion pair high performance liquid chromatography is used to simultaneous determination of three kinds of fluorescent whitening agents (CBS, VBL and BBU) in food-paper-plastic packaging materials. The extraction conditions of three kinds of fluorescent brighteners are determined by single factor test and orthogonal test. The results show that this method has good precision and accuracy, in line with routine testing requirements. According to the principle of ion pair reagent, the reverse ion pair of tetrabutyl ammonium bromide aqueous solution is used as the mobile phase to greatly delay the the peak time of three kinds of fluorescent brighteners and effectively separate them. CBS, VBL and BBU are measured in the packaging materials of milk, tea, instant milk, milk and other paper-plastic food packaging materials sold in supermarkets around the campus. The results demonstrate that BBU is detected from 10 kinds of samples, CBS is not detected in all samples and VBL is detected from 7 kinds of samples.

Key words: fluorescent whitening agent; ion pair reagent; high performance liquid chromatography (HPLC); food packaging materials

荧光增白剂 (Fluorescent whitening agents, FWAS), 化学名称为二苯乙炔联苯二磺酸钠, 是一种可以激发入射光线从而产生荧光的复杂有机化合物, 可使所染物质产生类似荧石的发光效应, 所以可以让物质看起来很白, 在工业生产尤其在造纸及包装制造业中常被用作荧光染料, 以增加纸张白度^[1-2]。食品纸质包材中的 FWAS 主要来源于以废旧纸料

为原料加工而成的食品包装用纸和生产过程中的人为添加^[3-5]。FWAS 具有良好的增白作用, 但研究证明, FWAS 一旦在人体内积累, 会增加肝脏负担, 且有致癌的危险。而食品包装所用的材料直接与食品接触, 所以对其中有毒有害物质的检测引起社会上的广泛重视^[7-9]。

我国现行的《中华人民共和国食品安全标准》、

收稿日期: 2016-12-05

基金项目: 徐州市科技项目 (KC14SM085)

作者简介: 安莹 (1981-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为食品安全, any@mail.xzcit; 葛冬梅 (1975-), 女, 博士, 高工, 研究方向为环境科学, gedm@mail.xzcit。

《食品包装用原纸卫生标准》(GB 11680—89)以及《国家食品卫生标准》(GB 147—81)都有明确规定:食品包装所使用的材料不得检出荧光增白剂之类的荧光性物质,并且在《食品包装用原纸卫生标准的分析方法》(GB/T 5009.78—2003)、《出口食品接触材料纸和纸制品荧光增白剂的测定液相色谱法》(SN/T 2901—1011)及《纸和纸板可迁移性荧光增白剂的测定》(GB/T 27741—2011)等标准中给出了荧光增白剂的检测方法 & 检出限。

笔者以纸质食品包材中使用较为广泛的 3 种荧光增白剂 CBS、VBL、BBU 为研究对象,利用四丁基溴化铵水溶液反向离子对优化检测条件的高效液相色谱法,建立 FWAS 更为科学、高效的 HPLC 检测方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

1.1.1 材料与试剂

标准品 CBS、VBL、BBU,质量分数均大于 99%,德国 DR 公司生产;甲醇,色谱纯,南京大唐化工有限责任公司;氨水,分析纯,上海化学科技有限公司生产;甲醇,分析纯,西格玛奥德里奇上海有限公司

生产;乙醇,分析纯,上海化学科技有限公司生产;四丁基溴化铵,分析纯,上海安谱实验科技股份有限公司生产;纸质食品包材:奶茶杯、爆米花桶、方便面纸杯、牛奶纸盒、糖纸,均为市售。

1.1.2 主要仪器设备

三用紫外分析仪,ZF-2 型,上海市安亭电子仪器厂生产;数控超声波清洗器,KQ-300DE 型,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;高效液相色谱仪,Agilent 1200 型,配 G-1311 四元泵、G-1329A 自动进样器、G-1321A 荧光检测器、G-1316A 柱温箱,安捷伦中国科技有限公司生产;液相色谱柱:安捷伦 C18(4.6 mm × 250 mm,5 μm),安捷伦中国科技有限公司生产;水浴氮吹仪,LB-W 型,青岛路博伟业环保科技有限公司生产。

1.2 试验原理及方法

1.2.1 试验原理

当离子对试剂加入到流动相后,离子对试剂中电离能力较强的反离子与待测组分的离子在流动相中生成中性的离子对化合物,从而在非极性固定相中的溶解度增加,大大增强了该目标离子化合物的保留能力,从而使分配系数增加,分离效果得以改善。

(上接第 200 页)

4 结论

根据速率理论,载气流速影响塔板高度,进而影响色谱柱的柱效。利用开发制备的芯片式色谱柱在不同的载气流量下进行实验,考察了载气流量对基线值、200 ppb 甲苯的响应值以及混合气分离的影响。流量在 2 ~ 7 mL/min 之间,基线值逐渐降低,200 ppb 甲苯的响应值先升高后降低,甲硫醚与甲苯的混合气分离度不小于 1.5,均为完全分离。综合色谱柱柱效高,气体响应值高,混合气分离度高,分析周期短等因素,得出芯片式色谱柱的最佳载气流速为 6 mL/min。

参考文献

- [1] Pfahler J, Harley J, Bau H, *et al.* Liquid transport in micro and sub-micron channels[J]. Proceedings of Spie, 1992, 1167 (89): 159 - 169.
- [2] 余明芬,曾洪梅,张桦,等. 微流控芯片技术研究概况及其应用进展[J]. 植物保护, 2014, 04: 1 - 8.

- [3] 孙东平. 现代仪器分析实验技术(上册)[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 90 - 96.
- [4] 杨丽, 张思祥, 李姗姗, 等. 用于恶臭气体检测的微型气相色谱柱的研发[J]. 微纳电子技术, 2014, 07: 447 - 450.
- [5] 刘虎威. 气相色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 10 - 28.
- [6] 齐美玲. 气相色谱分析及应用[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 43.
- [7] 韩金土. 气相色谱分离度的探讨[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 1990, 04: 351 - 353.
- [8] 朱明华, 胡坪. 仪器分析(第四版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008: 15 - 21.
- [9] 杨新颖. 恶臭气体检测系统开发与实验研究[D]. 天津: 河北工业大学, 2015: 12 - 19.
- [10] 王凤娇. 恶臭气体检测系统数据处理与标定技术研究[D]. 天津: 河北工业大学, 2016: 12 - 16.
- [11] Cram S P, Juvet R S. Gas chromatography[J]. Analytical Chemistry, 2002, 44 (5): 213 - 41.
- [12] 奚海明, 孙梅华. 分离度对色谱定量分析的影响[J]. 污染防治技术, 2006 (6): 49 - 50.
- [13] Nasreddine R, Person V, Serra CA, *et al.* Development of a novel portable miniaturized GC for near real-time low level detection of BTEX[J]. Sensors & Actuators B Chemical, 2016, 224: 159 - 169. ■

1.2.2 标准储备液的配制

准确称取0.1 g(精确至0.1 mg)荧光增白剂标准品,用甲醇稀释后,配制成1.0 mg/mL的荧光增白剂标准储备液,之后放入温度设置为4℃的冰箱中避光保存备用。

1.2.3 标准曲线的绘制

精密移取1.2.2所述荧光增白剂标准贮备液0.01、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0 mL于100 mL容量瓶中,并用甲醇定容至刻度线,配制质量浓度分别为0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10 μg/mL的标准工作溶液。以峰面积(Y)对质量浓度(X)进行回归分析。

1.2.4 样品的准备

在暗室中于紫外灯下查看纸塑包装材料样品有无荧光,将显示荧光的纸塑包装材料样品剪成约5 mm×5 mm大小的碎片,准确称取0.500 0 g碎纸屑,备用。

1.2.5 样品的前处理

取代表性测试样品,混合均匀后从中称取0.5 g(精确至0.000 1 g)并置于50 mL具塞锥形瓶中,然后加入20 mL甲醇,于50℃、功率400 W条件下超声萃取30 min,将萃取液完全移至50 mL离心管中,用氮吹仪浓缩至2 mL左右,用甲醇转移至5 mL容量瓶中,定容完毕摇匀后,取少量溶液放入离心机中,以4 000 r/min离心5 min,取上层清液并进行液相色谱分析。

1.3 液相色谱条件

采用安捷伦C18(4.6 mm×250 mm,5 μm)液相色谱柱,荧光检测器激发波长选择350 nm,发射波长选择430 nm,柱温设置30℃;以甲醇-离子对试剂(四丁基溴化铵5 mmol/L)为流动相进行梯度洗脱,流速为1.0 mL/min;进样量为20 μL,时间为10 min。

1.4 荧光增白剂质量分数的计算

计算样品中荧光增白剂的质量分数:

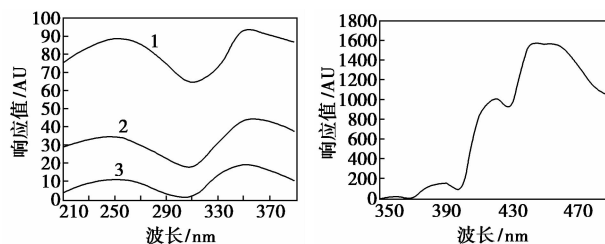
$$X = [(A - A_0) \times c_s \times V] / (A_s \times m)$$

式中: X 为试样中某种荧光增白剂的质量分数,mg/kg; A 为试样中某种荧光增白剂峰面积; A_0 为空白试样中某种荧光增白剂峰面积; c_s 为标准工作溶液中某种荧光增白剂的质量浓度,mg/L; V 为试样定容的体积,mL; A_s 为标准工作溶液中某种荧光增白剂的峰面积; m 为试样的质量,g。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的确定

利用G-1321A型荧光检测器对3种荧光增白剂CBS、VBL、BBU标准溶液在200~500 nm范围进行光谱扫描,结果其最大激发波长和发射波长基本一致,这是因为三者都属于双三嗪氨基二苯乙烯衍生物,具有相同的官能团结构,均以1 mol DSD酸和2 mol三聚氯氰的反应物为母体结构,都有1个大共轭基,故选取激发波长为350 nm,发射波长为430 nm条件进行测定。扫描图谱如图1所示。



1—系列1:VBL;2—系列2:

CBS;3—系列3:BBU

(a) 激发波长扫描图

(b) 发射波长扫描图

图1 3种荧光增白剂检测波长扫描图

2.2 流动相的确定

2.2.1 等度洗脱

首先以甲醇和水为流动相进行等度洗脱,当甲醇与水的体积比由25:75调整为50:50时,60 min内没有吸收峰出现;当甲醇与水体积比调整为65:35时,吸收峰峰形杂乱;当甲醇与水体积比调整为95:5时,BBU、CBS、VBL保留时间分别为2.107、2.169、2.187 min,峰形尖锐对称,但保留时间相近,3种荧光增白剂不能被很好地分离,如图2所示。

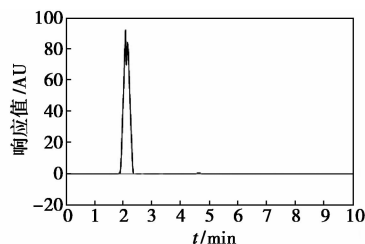


图2 等度洗脱3种荧光增白剂的色谱图

2.2.2 梯度洗脱

离子对试剂可以促进样品分子离子化,起到改善峰形的作用。加入适量5 mmol/L四丁基溴化铵离子对试剂,以甲醇和离子对试剂为流动相进行梯

度洗脱,梯度洗脱程序如表 1 所示。BBU、CBS、VBL 保留时间分别为 6.367、7.993、8.320 min,可以同时分离 BBU、CBS 及 VBL,结果如图 3 所示。

表 1 液相色谱流动相梯度洗脱程序

时间/min	0	3	4	5	10
V(甲醇):V(四丁基溴化铵水溶液)	25:75	65:35	75:25	95:5	75:25

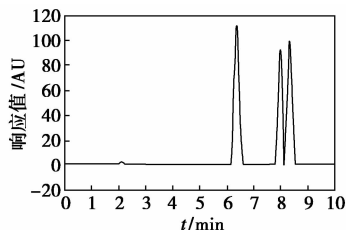


图 3 梯度洗脱 3 种荧光增白剂的色谱图

2.3 提取条件的确定

2.3.1 提取剂的选择

工业生产中常以乙醇、甲醇、蒸馏水和 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)等为荧光增白剂的提取剂,由于 *N,N*-二甲基甲酰胺的沸点高,后期不易挥发,故分别以甲醇、甲醇-水(体积比为 1:1)、乙醇、乙醇-水(体积比为 1:1)、水为提取剂。按照 1.2.5 中所述的步骤进行试验,结果如表 2 所示。由表 2 可以看出,当提取剂为甲醇时,样品中 VBL、CBS、BBU 的提取率均最大,这是由于甲醇的极性大于乙醇,而 3 种目标 FWAs 属于强极性化合物,根据相似相溶原理,待测物在甲醇中的溶解度高于其他溶剂。

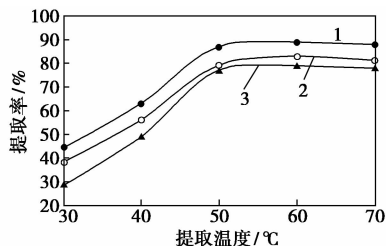
表 2 不同提取剂对提取率的影响

序号	提取试剂	提取率/%		
		VBL	VBS	BBU
1	甲醇	83.5	86.1	92.2
2	甲醇:水(体积比为 1:1)	64.2	76.5	73.6
3	乙醇	30.1	34.2	30.2
4	乙醇:纯水(体积比为 1:1)	21.3	22.0	21.6
5	纯水	10.4	11.4	12.4

2.3.2 提取温度的选择

在保持纸样质量为 0.500 0 g,甲醇提取剂为 20 mL,功率为 400 W 条件下,分别于 30、40、50、60、70℃条件下超声提取 30 min 后,在 1.3 所述条件下进行测定,结果如图 4 所示。由图 4 可以看出,在 50℃时,3 种 FWAs 的提取率均最大,温度小于 50℃时,随着温度的增加,样品中 3 种 FWAs 的提取率呈显著上升趋势;当提取温度大于 50℃时,样品中 3

种 FWAs 的提取率随着提取温度的升高反而有所降低。原因是由于荧光增白剂在高温下有所分解所致。

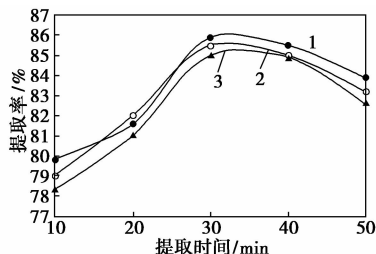


1—系列 1:VBL;2—系列 2:CBS;3—系列 3:BBU

图 4 提取温度对提取率的影响

2.3.3 提取时间的选择

在保持纸样质量为 0.500 0 g,甲醇提取剂为 20 mL,功率为 400 W 条件下,于 50℃分别超声 10、20、30、40、50 min,在 1.3 所述条件下进行测定,结果如图 5 所示。由图 5 可以看出,当提取时间小于 30 min 时,3 种 FWAs 的提取率随着提取时间的增加而增加;当提取时间大于 30 min 时,提取率随着提取时间的延长而趋于恒定。提取时间过短,待测物不能被完全提取,而提取时间过长时,待测物基本上完全浸出,再延长时间提取率不会再有明显增加。

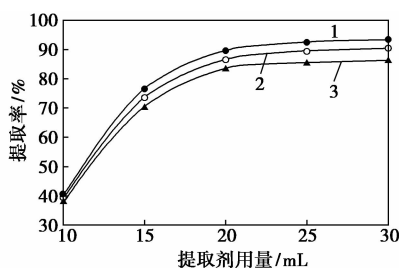


1—系列 1:VBL;2—系列 2:CBS;3—系列 3:BBU

图 5 不同提取时间对提取率的影响

2.3.4 料液比的选择

在保持纸样质量为 0.500 0 g,功率为 400 W 条件下,分别加入 10、15、20、25、30 mL 甲醇提取剂,于 50℃超声提取 30 min 后,在 1.3 所述条件下进行测定,结果如图 6 所示。由图 6 可以看出,3 种 FWAs 的提取率随着提取剂用量的增加呈增加趋势,当提取剂用量小于 20 mL 时,提取率有较大增幅;而当提取剂用量大于 20 mL 时,提取率几乎不再增加。这是因为随着料液比的增加,待测物基本上完全浸出,再提高料液比也不会明显增加,综合考虑试验成本及后期溶剂挥发等因素,确定提取剂用量为 20 mL,即液料比为 1:40。



1—系列1:VBL;2—系列2:CBS;3—系列3:BBU

图6 提取剂用量对提取率的影响

2.4 方法学验证

2.4.1 标准曲线及检出限

在1.3所述的液相色谱条件下,分别以目标物质量浓度和目标物峰面积为横、纵坐标作标准曲线,得出其线性回归方程、相关系数等参数如表3所示。由表3可以看出,3种FWAS的线性关系良好,相关系数均大于0.999 0。

表3 目标物的线性回归方程及检出限

标准品	线性范围/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	线性方程	相关系数 (R^2)	检出限/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
VBL	0.1 ~ 10	$Y = 584.32X + 4.1813$	0.9998	0.02
CBS	0.1 ~ 10	$Y = 407.68X - 3.9016$	0.9993	0.01
BBU	0.1 ~ 10	$Y = 140.89X + 2.3491$	0.9992	0.01

2.4.2 方法的回收率和精密度试验

选取不含荧光增白剂的空白纸样进行加标回收试验,称取2组粉碎后的样品0.5 g,加入2个不同浓度的VBL荧光增白剂标准溶液,每个浓度进行3个平行实验,按1.2.5所述方法进行样品处理,在1.3所述液相色谱条件下进行测定,用回收率验证方法的准确度,用相对标准偏差(RSD)验证方法的精密度,结果如表4所示。从表4可以看出,加标回收率为86.3%~92.5%,相对标准偏差为1.9%~3.2%。说明该方法具有良好的精密度和准确度。

表4 回收率试验结果

序号	称样量/ g	加标量/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	实测总量/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	回收率/ %	RSD/ %
1	0.5002	2	1.78	89.0	
2	0.5003	2	1.82	91.0	1.9
3	0.4997	2	1.85	92.5	
4	0.4998	4	3.55	88.8	
5	0.5000	4	3.45	86.3	3.2
6	0.5000	4	3.68	92.0	

2.5 样品测定

利用建立的实验方法对1.1.1所述的食品纸塑包材样品进行检测,10种样品中均检出BBU,未检出CBS,7种样品检出VBL,测定值在检出限和定量限之间。依据现行的食品包装材料标准即《中华人民共和国食品安全标准》中规定“食品包装材料不得检出荧光性物质”,直接和食品接触的包装材料中的荧光增白剂的控制应引起有关部门的重视。

3 结论

提出并验证了超声辅助提取-反相离子对高效液相色谱法同时检测纸塑食品包材中3种阴离子荧光增白剂的方法。该方法具有良好的精密度和准确度,符合常规检测要求。根据离子对试剂的作用原理,将四丁基溴化铵水溶液反向离子对作为流动相配合使用,使研究对象的3种荧光增白剂出峰时间大大延迟,并得以有效分离,提高了检测效率。

参考文献

- [1] 邓凯芬,任佳丽,彭湘莲,等. ASE/HPLC 测定纸塑包装中荧光增白剂 VBL[J]. 食品与机械,2012,28(3):96-100.
- [2] 钱荣敬,文明,刘钊,等. 纸张用荧光增白剂的国内外标准及检测方法概述[J]. 纸和造纸,2015,34(3):60-65.
- [3] 朱晓玲,刘杰,文红,等. 荧光增白剂检测技术研究进展[J]. 食品工业科技,2014,35(10):366-371.
- [4] 蒋定国,陈立松,温小龙,等. 荧光分光光度法测定纸质食品包装材料中的荧光增白剂[J]. 中国食品卫生杂志,2014,26(1):50-54.
- [5] 郑群雄,冯玉萍,杜美霞,等. HPLC 法测定纸质食品包装材料中荧光增白剂 VBL[J]. 中国食品学报,2013,13(8):207-212.
- [6] 庞月红,巩宗爱,张明如,等. 食品包装荧光增白剂检测方法研究进展[J]. 食品工业科技,2013,34(18):387-390.
- [7] 中华人民共和国卫生部. GB 11680—1989 食品包装用原纸卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社,1989.
- [8] 潘可亮,杨利,刘勇,等. 荧光增白剂 VBL 的荧光光谱及测定方法研究[J]. 化学研究与应用,2010,22(9):1210-1213.
- [9] 应玲,许峰,金发根,等. 高效液相色谱法测定荧光增白剂[J]. 分析检测技术与仪器,1995,1(2):15-17.
- [10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 10661—2003 荧光增白剂 VBL[S]. 北京:中国标准出版社,2003:3-4.
- [11] Santos M, Nerin C. The analysis of fluorescent whitening agents using reversed-phase HPLC and mass spectrometry [J]. LCGC North America,2004,22:550-560.
- [12] 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. ■