

高效液相色谱法同时测定食品接触材料水性模拟物中三聚氰胺和苯代三聚氰胺

郝成婷¹,周志荣²,徐 炎²,王红松²,陈智栋¹,姚 浩³,黄晨阳³

(1.常州大学石油化工学院,江苏常州 213164;

2.常州出入境检验检疫局,江苏常州 213022;

3.常州进出口工业及消费品安全检测中心,江苏常州 213022)

摘要:建立了食品接触材料水性模拟物中三聚氰胺和苯代三聚氰胺的高效液相色谱(HPLC)分析方法。样品根据拟装食品类型不同,经水、3%(w/v)乙酸水溶液、4%(v/v)乙酸水溶液、10%(v/v)乙醇水溶液、20%(v/v)乙醇水溶液或50%(v/v)乙醇水溶液6种不同水性模拟物提取,0.45 μ m滤膜过滤后直接由高效液相色谱分析。色谱分离采用强阳离子交换与反相C₁₈混合填料分析柱(混合比例1:4),柱温35 $^{\circ}$ C,流动相为乙腈-20mmol/L乙酸铵缓冲溶液(pH3.0)(40:60,v/v),流速为0.2mL/min,检测波长为240nm。结果表明:在优化的条件下,三聚氰胺和苯代三聚氰胺标准品在0.2~20mg/L浓度范围内,线性相关系数为0.9997~0.9999,方法定量限(S/N>10)为0.015~0.033mg/dm²。在0.025~0.70mg/dm²三个水平加标测试,平均回收率在80.0%~103.3%之间,相对标准偏差(n=6)为0.5%~4.0%。该方法前处理简单、分析速度快,可用于食品接触材料水性模拟物中三聚氰胺和苯代三聚氰胺的同时检测。

关键词:高效液相色谱法,三聚氰胺,苯代三聚氰胺,食品接触材料

Simultaneous determination of melamine and benzoquanamine in aqueous food simulants of food contact materials by high performance liquid chromatography

HAO Cheng-ting¹, ZHOU Zhi-rong², XU Yan², WANG Hong-song²,

CHEN Zhi-dong¹, YAO Hao³, HUANG Chen-yang³

(1.School of Petrochemical Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China;

2.Changzhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Changzhou 213022, China;

3.Changzhou Safety Testing Center for Entry-Exit Industrial and Consumable Products, Changzhou 213022, China)

Abstract: A new analytical method based on high performance liquid chromatography (HPLC) technique was developed for the simultaneous determination of melamine and benzoquanamine in aqueous food simulants of food contact materials. According to the type of the contacted food, the samples were extracted by water, 3% (w/v) acetic acid aqueous solution, 4% (v/v) acetic acid aqueous solution, 10% (v/v) ethanol aqueous solution, 20% (v/v) ethanol aqueous solution or 50% (v/v) ethanol aqueous solution. The extracted solutions were injected in HPLC column before the penetration through a 0.45 m microporous membrane. The separation was performed on a strong cation exchange and reversed phase C₁₈ mixed packing column (1:4, by mixing ratio) at 35 $^{\circ}$ C and with acetonitrile-20mmol/L ammonium acetate buffer solution (pH=3.0) (40:60, v/v) as the mobile phase at a flow rate of 0.2mL/min. The detection was performed at UV 240nm. Under the optimum conditions, the linear range was from 0.2 to 20.0mg/L with the linear correlation coefficients of 0.9997~0.9999. The limits of quantification (S/N \geq 10) were 0.015~0.033mg/dm². The mean recoveries were 80.0%~103.3% in spiked level of 0.025~0.70mg/dm² with the relative standard deviation (n=6) 0.5%~4.0%. This method is simple, rapid and suitable for the simultaneous determination of melamine and benzoquanamine in aqueous food simulants of food contact materials.

Key words: high-performance liquid chromatography (HPLC); melamine; benzoquanamine; food contact materials

中图分类号: TS206.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)08-0054-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.08.002

收稿日期: 2013-08-13

作者简介: 郝成婷(1988-),女,硕士研究生,工程师,研究方向:有机毒害物质检测。

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局科技计划资助项目(2012IK207)。

三聚氰胺和苯代三聚氰胺(见图1)是生产食品接触材料制品常见原料之一,它们与甲醛反应生成的三聚氰胺甲醛树脂和苯代三聚氰胺甲醛树脂被广泛用于生产热固性树脂、改性树脂、氨基涂料和蜜胶

餐具等食品接触材料产品。在日常使用中,这些产品材料中残留的或降解产生的三聚氰胺和苯代三聚氰胺单体可向所接触的食品发生迁移,从而污染食品,对人体的健康产生潜在危害。欧盟和我国目前已对食品接触材料制品中的三聚氰胺和苯代三聚氰胺迁移量制定了严格的限量标准^[1-2],因此,为了加强对食品接触材料制品安全性的监控,有必要建立可对食品接触材料中三聚氰胺和苯代三聚氰胺迁移量同时检测的分析方法。目前,三聚氰胺的检测手段主要包括高效液相色谱法(HPLC)^[3-7]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[8-10]、液相色谱-质谱法(LC-MS)^[11-16]、毛细管电泳法^[17]等,其中高效液相色谱法操作相对简单、运行成本低、普及率高,已成为检测三聚氰胺的主要手段。GB/T 23296.15-2009给出了食品接触材料水性食品模拟液中三聚氰胺的测定方法,但所用流动相中需要使用磷酸盐,无法与液相色谱-质谱技术联用,而有关苯代三聚氰胺的检测国内尚未见文献报道。本文采用强阳离子交换与反相C₁₈混合填料色谱柱,建立了一种可同时检测食品接触材料6种水性模拟物中三聚氰胺和苯代三聚氰胺的分析方法,而且该方法可直接应用于液相色谱-质谱联用分析。

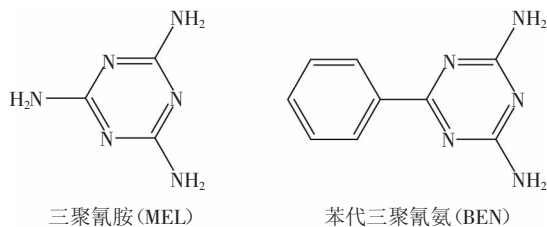


图1 三聚氰胺和苯代三聚氰胺的分子结构

Fig.1 Chemical structures of melamine and benzoquanamine

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

三聚氰胺标准品 德国Dr. Ehrenstorfer公司,纯度 $\geq 99.0\%$;苯代三聚氰胺标准品 英国Alfa Aesar公司,纯度 $\geq 99\%$;乙腈 德国GmbH公司,色谱纯;乙醇 国药集团,分析纯;冰醋酸 国药集团,优级纯;乙酸铵缓冲溶液(20mmol/L,用乙酸调至pH3.0)。

LC1200高效液相色谱仪 配有紫外检测器及化学工作站,美国Agilent公司;强阳离子交换、反相C₁₈混合填料柱 混合比例1:4(150mm \times 2.0mm, 5 μ m),日本资生堂公司;DELTA 320 pH计 德国梅特勒托利多公司;AG 285分析天平 德国梅特勒托利多公司;Milli-Q Reference超纯水器 美国Millipore公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 按照欧盟82/711/EEC^[18]的规定,样品根据实际使用条件和拟装食品的性质,选择合适的水性模拟物、浸泡时间以及浸泡温度^[19],其中用水和10%(v/v)乙醇水溶液模拟水性食品(pH $>$ 4.5);3%(w/v)和4%(v/v)乙酸水溶液模拟酸性食品(pH $<$ 4.5);20%(v/v)乙醇水溶液模拟含酒精类食品;50%(v/v)乙醇水溶液模拟乳制品。样品按照1dm²内表面积装入100mL水性模拟物,密封后进行浸泡提取。浸泡完

成后,取2mL浸泡液经0.45 μ m滤膜过滤,滤液供HPLC分析。

1.2.2 色谱条件 色谱柱:强阳离子交换与反相C₁₈混合填料柱,混合比例1:4(150mm \times 2.0mm, 5 μ m);流动相:乙腈-20mmol/L乙酸铵缓冲溶液(pH3.0)(体积比为40:60);流速0.2mL/min;柱温:35 $^{\circ}$ C;检测波长:240nm;进样量:10 μ L。

1.2.3 溶液的配制

1.2.3.1 标准溶液的配制 标准储备液:准确称取三聚氰胺和苯代三聚氰胺标准品各0.1g(精确至0.1mg)于2个100mL容量瓶中,分别用水和乙腈溶解并定容至刻度,两种储备液质量浓度均为1000mg/L,于4 $^{\circ}$ C冰箱中储存。标准溶液:分别用水、3%乙酸(w/v)、4%乙酸(v/v)、10%(v/v)乙醇、20%(v/v)乙醇、50%(v/v)乙醇6种水性模拟液将两种标准储备液混合逐步稀释至质量浓度为0.2、1.0、5.0、10.0、15.0、20.0mg/L 6种系列标准溶液,于4 $^{\circ}$ C冰箱中储存。

1.2.3.2 乙酸铵缓冲溶液(20mmol/L,用乙酸调至pH3.0)配制 准确称取1.5416g(精确至0.1mg)乙酸铵于1L容量瓶,先用约900mL水溶解摇匀,再用乙酸溶液调至pH3.0后,用水定容至刻度,混均后备用。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

2.1.1 波长的选择 分别对10mg/L三聚氰胺和苯代三聚氰胺水溶液进行紫外扫描。结果如图2所示,三聚氰胺在204nm和236nm处有最大吸收,苯代三聚氰胺在204nm和246nm处有最大吸收。由于流动相乙腈在200nm的紫外吸收信号较强,会产生严重的基线干扰,而三聚氰胺和苯代三聚氰胺在240nm处紫外吸收值均较高,因此为了提高分析方法的灵敏度和可靠

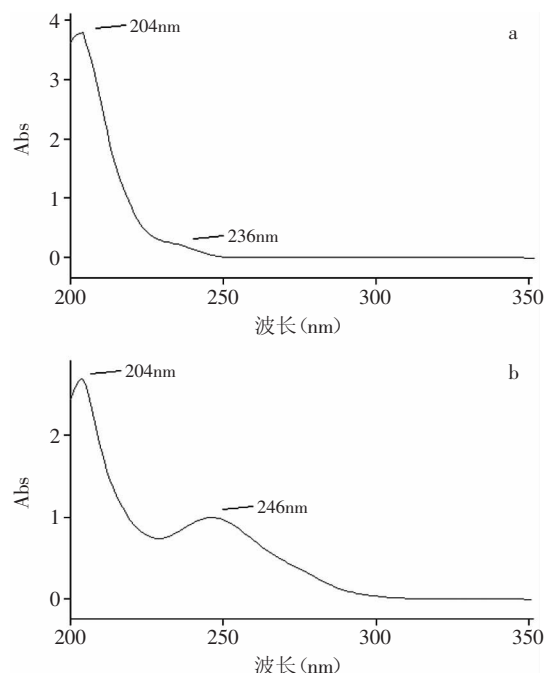


图2 三聚氰胺和苯代三聚氰胺水溶液的紫外光谱图
Fig.2 UV spectrum of melamine and benzoquanamine solution
注:a.三聚氰胺;b.苯代三聚氰胺。

性,降低基线噪音,本方法选择240nm作为紫外检测波长。

2.1.2 流动相比比例的选择 实验比较了三聚氰胺和苯代三聚氰胺在乙腈与20mmol/L乙酸铵缓冲溶液3种不同体积比下(45:55、40:60和35:65)的色谱分离情况。结果表明,由于三聚氰胺极性较强,苯代三聚氰胺极性较弱,随着流动相极性的增大,前者的保留时间提前,而后者的保留时间延长。当流动相比比例为45:55时,苯代三聚氰胺的色谱峰受到溶剂峰的干扰较为明显;当流动相比比例为35:65时,两种目标分析物的分离度较差,因此为了避免溶剂峰的干扰,提高色谱分离效果和缩短分析时间,本方法最终选择乙腈-20mmol/L乙酸铵缓冲溶液(体积比40:60)为流动相。

2.1.3 流动相中乙酸铵浓度的影响 为了使三聚氰胺和苯代三聚氰胺实现更好的色谱分离,实验对流动相中乙酸铵的浓度进行了优化。分别选用10、15、20mmol/L乙酸铵水溶液作为流动相,结果表明,随着乙酸铵浓度的增加,两种目标分析物的保留时间均提前,同时色谱峰的峰宽变窄,峰型更加尖锐,但是过高浓度的乙酸铵在有机相中有析出的可能,因此本研究选用20mmol/L乙酸铵溶液作为流动相。

2.2 线性范围和定量限

采用1.2.2中的色谱条件,对1.2.3.1中的系列标准溶液进行测定,典型的色谱图见图3。以目标物的峰面积(y)为纵坐标,以其质量浓度(x, mg/L)为横坐标做标准曲线。两种目标物的线性回归方程、相关系数、方法定量限(MQL, 逐级稀释标准溶液并按信噪比(S/N)>10计算)见表1。

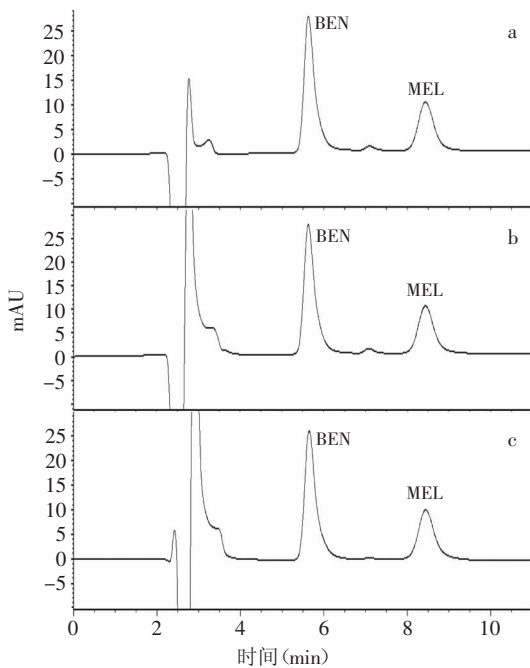


图3 2.0mg/L标准溶液的典型液相色谱图

Fig.3 Typical chromatograms of 2.0mg/L standard solution
注:a.H₂O;b.3%乙酸(w/v);c.10%乙醇(v/v)。

2.3 回收率和精密度

采用空白蜜胺碗,对去离子水、3% (w/v) 乙酸水

表1 不同食品模拟物中三聚氰胺和苯代三聚氰胺的线性方程、相关系数、和方法定量限(MQL)

Table 1 Linear equations, correlation coefficients, method detection limits of melamine and benzoquanamine in different simulant solutions

食品模拟物	目标物	线性方程	R ²	MQL (mg/dm ²)
去离子水	MEL	y=137.97x+1.8106	0.9999	0.016
	BEN	y=26288x-8.7511	0.9999	0.033
3%乙酸水溶液	MEL	y=135.34x+1.0024	0.9998	0.018
	BEN	y=26354x-2.3581	0.9998	0.027
4%乙酸水溶液	MEL	y=136.12x-1.1248	0.9999	0.021
	BEN	y=26012x+1.0217	0.9999	0.030
10%乙醇水溶液	MEL	y=134.57x+1.4528	0.9999	0.022
	BEN	y=26421x-5.0427	0.9999	0.029
20%乙醇水溶液	MEL	y=138.13x+2.0123	0.9997	0.017
	BEN	y=26607x-3.4327	0.9999	0.031
50%乙醇水溶液	MEL	y=136.85x-1.1549	0.9998	0.015
	BEN	y=26437x+1.3512	0.9997	0.025

溶液和10% (v/v) 乙醇水溶液3种模拟物在70℃条件下浸泡2h后分别进行3个浓度水平的加标回收率和精密度实验,每一样品水平平行测定6次。结果如表2所示,三聚氰胺和苯代三聚氰胺的平均回收率在80.0%~103.3%,相对标准偏差(RSD)为0.5%~4.0%。

表2 不同模拟物中三聚氰胺和苯代三聚氰胺单体迁移量的回收率(n=6)

Table 2 Recoveries of melamine and benzoquanamine in different simulant solutions (n=6)

食品模拟物	目标物	本值 (mg/dm ²)	添加值 (mg/dm ²)	回收率 (%)	RSD (%)	
去离子水	MEL	0.025	0.021	84.0	3.1	
		0.15	0.15	100.0	2.0	
	BEN	0.70	0.71	101.4	1.3	
		0.040	0.036	90.0	2.5	
	3%乙酸水溶液	MEL	0.15	0.15	103.2	0.9
			0.70	0.72	103.3	0.5
BEN		0.025	0.020	80.0	3.5	
		0.15	0.15	97.5	2.3	
MEL		0.70	0.69	98.9	1.6	
		0.040	0.033	82.5	3.6	
10%乙醇水溶液	BEN	0.10	0.14	96.3	2.1	
		0.70	0.68	97.2	1.8	
	MEL	0.025	0.022	88.0	4.0	
		0.15	0.15	98.8	3.2	
	BEN	0.70	0.71	101.3	1.7	
		0.040	0.034	85.0	3.8	
MEL	0.15	0.15	97.6	2.7		
	0.70	0.69	99.1	2.0		

2.4 实际样品的测试

从江苏地区送检的食品接触材料样品中随机抽

取50个,采用本文建立的方法进行了三聚氰胺和苯代三聚氰胺检测,表3列举了部分典型样品的检测结果。图4为典型样品的液相色谱分析谱图。

表3 实际样品中三聚氰胺和苯代三聚氰胺的测定结果(n=6)
Table 3 Testing results of melamine and benzoquanamine in real sample (n=6)

样品	检测值(mg/dm ²)		样品	检测值(mg/dm ²)	
	MEL	BEN		MEL	BEN
蜜胺餐具1#	0.031	未检出	饮料罐1#	未检出	0.076
蜜胺餐具2#	0.0521	未检出	饮料罐2#	未检出	0.083
蜜胺餐具3#	0.065	未检出	饮料罐3#	未检出	0.11
蜜胺餐具4#	0.14	未检出	饮料罐4#	未检出	未检出

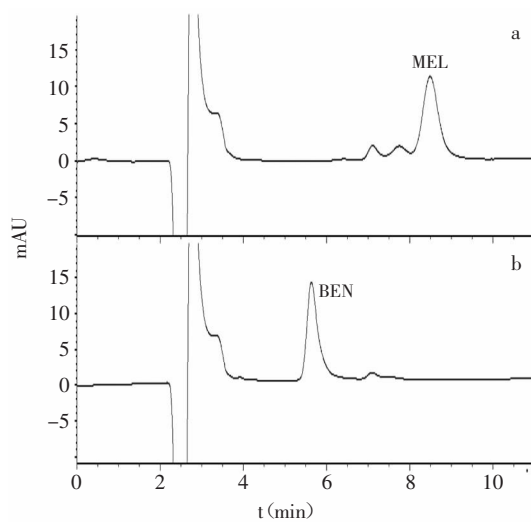


图4 典型样品的液相色谱分析谱图

Fig.4 Chromatogram of the sample

注:a.蜜胺餐具;b.饮料罐。

3 结论

建立了高效液相色谱法同时测定食品接触材料6种不同水性模拟物中三聚氰胺和苯代三聚氰胺的方法。该方法操作简单,灵敏,定量限和重复性等指标能够满足日常检测的要求,为进出口食品接触材料制品中三聚氰胺和苯代三聚氰胺的快速检测提供了一种可靠的分析方法。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. GB/T 9685-2008食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
[2] The European Union. Official Journal of the European Union [S]. Brussels:The European Commission,2011.

[3] 陈昱实,井伟,吕水源,等. 高效液相色谱法检测食品接触产品中的三聚氰胺及其衍生物的迁移量[J]. 分析化学,2011,39(10):1572-1576.
[4] 唐涛,李双花,刘翻,等. 鸡蛋中三聚氰胺的液相色谱快速测定[J]. 色谱,2009,27(4):513-515.
[5] 魏杰,郭志谋,沈爱金,等. 基于QuEChERS前处理技术和弱阳离子交换色谱的牛奶和奶粉中三聚氰胺的快速检测方法[J]. 色谱,2011,29(7):687-690.
[6] 李延昭,郝卫强,王余波,等. 应用亲水作用色谱检测鸡蛋和肉中三聚氰胺及三聚氰酸二酰胺[J]. 色谱,2012,30(7):716-720.
[7] 李永生,梁琴琴,侯艳秋,等. 用于高效液相色谱测定乳制品中三聚氰胺的流动注射在线固相萃取富集系统[J]. 分析化学,2012,40(2):298-303.
[8] 卢业举,舒勇,赵成仕. 气相色谱-串联质谱法测定食品中的三聚氰胺[J]. 色谱,2008,26(6):749-751.
[9] 朱馨乐,刘琪,李丹,等. 气相色谱-质谱法测定鸡肉中残留的环丙胺嗪及其代谢物三聚氰胺[J]. 色谱,2009,27(4):401-405.
[10] 李锋格,姚伟琴,苏敏,等. 气相色谱-质谱法快速测定牛奶中的三聚氰胺和三聚氰酸[J]. 色谱,2009,27(2):233-236.
[11] 井伟,唐熙,吕水源,等. LC-ESIMS/MS测定蜜胺餐具中三聚氰胺的迁移量[J]. 分析测试学报,2011,30(3):269-273.
[12] 黄芳,黄晓兰,吴惠勤,等. 高效液相色谱-质谱法对饲料及食品添加剂中三聚氰胺的测定[J]. 分析测试学报,2008,27(3):313-315.
[13] 赵善贞,邓晓军,伊雄海,等. 固相萃取-亲水相互作用色谱/串联质谱法同时测定食品中三聚氰胺和三聚氰酸[J]. 色谱,2012,30(7):677-683.
[14] 钱鸣蓉,章虎,何红梅,等. 亲水作用色谱-串联质谱测定蔬菜中灭蝇胺及其代谢物三聚氰胺[J]. 分析化学,2009,37(6):902-906.
[15] 梅少博,侯晋,张文国,等. 亲水作用色谱-串联质谱法测定化妆品中三聚氰胺残留量[J]. 色谱,2010,28(12):1189-1191.
[16] 李爱军,张代辉,马书民,等. 液相色谱-串联质谱法测定饲料中三聚氰胺残留[J]. 分析化学,2008,36(5):699-701.
[17] 饶钦雄,童敬,郭平,等. 高效毛细管电泳法测定牛奶和奶粉中残留的三聚氰胺[J]. 色谱,2008,26(6):755-758.
[18] European Commission. Council Directive 82/711/EEC laying down the basic rules necessary for testing 11 come into contact with food migration of constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. [1982-10-18]. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1982L0711:19970901:EN:PDF>.
[19] 姜欢,商贵琴,陈智栋,等. 脲醛树脂制品中甲醛在食品模拟物中迁移的规律[J]. 食品工业科技,2013,29(2):73-76.

权威·核心·领先·实用·全面