

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2018.11.011

顶空/气相色谱-质谱联用法测定食品接触材料中 5-亚乙基-2-降冰片烯的迁移量

李少飞, 熊小婷, 余文勋, 陈意光, 刘德云, 杨培,
谭建华*, 李慧勇, 席绍峰

(广州质量监督检测研究院, 广东 广州 510000)

摘要: 建立了顶空/气相色谱-质谱联用(HS/GC-MS)测定食品接触材料中5-亚乙基-2-降冰片烯(ENB)迁移量的方法, 对前处理方法(溶剂提取-直接进样和气液平衡-顶空进样)、顶空平衡温度、顶空平衡时间进行了优化。以水、4%(体积分数)乙酸、50%(体积分数)乙醇和橄榄油作为食品模拟物, 样品经食品模拟物浸泡, 于顶空气液平衡后进样, 经DB-5 MS色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)分离后, 采用选择离子模式进行检测, 外标法定量。在优化实验条件下, ENB在0.1~10 mg/L范围内呈良好的线性关系, 相关系数(r)大于0.999, 在0.1、1.0、10 mg/L 3个加标水平下, 方法的回收率为92.0%~108%, 相对标准偏差(RSD, $n=5$)为0.9%~4.0%, 检出限(LOD)为0.01 mg/kg, 定量下限(LOQ)为0.03 mg/kg。该方法准确、可靠、灵敏度高, 适用于食品接触材料中ENB迁移量的测定。

关键词: 5-亚乙基-2-降冰片烯(ENB); 食品模拟物; 食品接触材料; 顶空/气相色谱-质谱联用法(HS/GC-MS)

中图分类号: O657.63; R917 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2018)11-1344-05

Determination of 5-Ethylidene-2-norbornene Migration in Food Packaging Materials by Head-space/Gas Chromatography - Mass Spectrometry

LI Shao-fei, XIONG Xiao-ting, SHE Wen-xun, CHEN Yi-guang, LIU De-yun,
YANG Pei, TAN Jian-hua*, LI Hui-yong, XI Shao-feng

(Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 510000, China)

Abstract: A head-space/gas chromatography - mass spectrometric(HS/GC-MS) method was established for the determination of 5-ethylidene-2-norbornene migration in food packaging materials. Water, 4% aqueous acetic acid solution, 50% aqueous ethanol solution and olive oil were chosen as food stimulant. Samples were soaked with the food stimulant, followed by injection after gas - liquid equilibrium and separation with a DB - 5 MS capillary(30 m×0.25 mm×0.25 μm) column. The target was determined in selective ion mode and quantified by external standard method. The pretreatment methods(solvent extraction - direct injection and gas - liquid balance-head space injection), headspace balance temperature, and headspace balance time were optimized. Under the optimal conditions, there was a good linearity for 5-ethylidene-2-norbornene between its peak areas and concentrations in the range of 0.1 - 10 mg/L with correlation coefficients(r) more than 0.999. The spiked recoveries for 5-ethylidene-2-norbornene in fruits at three spiked levels of 0.1, 1.0, 10 mg/L ranged from 92.0% to 108%, with relative standard deviations(RSDs, $n=5$) of 0.9% - 4.0%. The limits of detection(LOD) of this method were 0.01 mg/kg, and the limits of quantitation(LOQ) were 0.03 mg/kg. With the advantages of accuracy, reliability and high sensitivity, this method was suitable for the determination of 5-ethylidene-2-norbornene migration in food packaging materials.

Key words: 5-ethylidene-2-norbornene (ENB); food simulant; food packaging materials; head-space/gas chromatography - mass spectrometry(HS/GC-MS)

收稿日期: 2018-01-16; 修回日期: 2018-03-23

* 通讯作者: 谭建华, 博士, 高级工程师, 研究方向: 食品包装产品、日用化工产品检测以及色谱、质谱分析, E-mail: tanjianhua0734@aliyun.com

降冰片烯(NB)是一类基本结构为环己烯环和亚甲基桥的化合物。该类化合物容易自聚,且易与其他单体(乙烯、丙烯、氯乙烯等)共聚,是合成环烯共聚物的重要原料^[1-2]。5-亚乙基-2-降冰片烯(又名乙叉降冰片烯,简称ENB,分子结构式如图1所示)是高分子材料中应用很广泛的一种降冰片烯,可作为改性单体与乙烯、丙烯共聚合成聚乙烯(PE)和聚丙烯(PP)树脂,在自然界中存在顺、反式异构体(ENB-1和ENB-2)。ENB还是目前三元乙丙橡胶工业生产中应用最多的一种第三单体,其与乙烯、丙烯共聚生产的三元乙丙橡胶具有硫化速度快、二次反应少、硫化后橡胶的拉伸强度高优点,是目前最常见的三元乙丙橡胶^[3-4]。但ENB可通过吸入、皮肤吸收等方式进入人体,损伤睾丸、雄性生殖腺,刺激眼睛、鼻和咽喉,反复高浓度暴露可损伤肝、肺和肾。因此,需要控制ENB的使用,以免过量迁移至食品中,对人体造成伤害。GB 9685-2016《食品安全国家标准 食品接触材料及制品用添加剂使用标准》^[5]明确规定ENB在PP、PE材质中的特定迁移量限量(SML)应低于0.05 mg/kg。因此,亟需建立食品接触材料中ENB迁移量的检测方法。

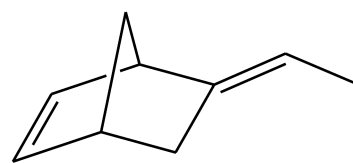


图1 ENB的分子结构式

Fig. 1 Molecular structure of ENB

目前,关于降冰片烯检测方法的文献报道较少,主要方法有气相色谱法^[6]和裂解/气相色谱-质谱联用法^[7],研究对象为乙叉降冰片烯^[6]、三元乙丙橡胶^[7],但尚无针对食品接触材料中ENB迁移量的测定方法。顶空/气相色谱-质谱联用法广泛应用于食品、食品接触材料中的有机污染物检测^[8-13],本文采用该方法,选择水、4%(体积分数)乙酸、50%(体积分数)乙醇和橄榄油4种食品模拟物为研究对象,建立了食品接触材料中ENB迁移量的测定方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

7890B-5977B气相色谱-质谱联用仪、7967A顶空进样器(美国Agilent公司), Milli-Q超纯水器(美国Millipore公司), 电子分析天平(精度0.01 mg)。

5-亚乙基-2-降冰片烯(ENB, 纯度98%, 上海安谱实验科技股份有限公司); 橄榄油(化学纯, 国药集团化学试剂有限公司), 乙酸、乙醇(分析纯, 广州化学试剂厂), 正己烷(色谱纯, 美国Spectrum公司), 实验用水为一级纯水。

1.2 标准溶液的制备

准确称取适量的ENB标准品(精确至0.01 mg), 用正己烷配制成质量浓度约为1 000 mg/L的标准储备溶液, 逐级稀释成10、20、50、100、200、500、1 000 mg/L的系列标准工作溶液, 于0~10℃下密封储存, 有效期为两周。

1.2.1 水基模拟物工作曲线溶液的制备 分别量取5 mL水基模拟物(水、4%乙酸、50%乙醇)于7个顶空瓶中, 均加入ENB标准工作溶液50 μL, 压盖密封, 混匀。制备成0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 mg/L的系列工作曲线溶液。

1.2.2 油基模拟物工作曲线溶液的制备 分别称取5 g油基模拟物(橄榄油)于7个顶空瓶中, 均加入ENB标准工作溶液50 μL, 压盖密封, 混匀。制备成0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 mg/L的系列工作曲线溶液。

1.3 样品前处理

按照GB 31604.1-2015^[14]和GB 5009.156-2016^[15]的要求, 对样品进行迁移实验, 得到食品模拟物试液。若不能立即实验, 应将食品模拟物试液于4℃冰箱中避光保存。

迁移实验完成后将模拟物试液放至室温。对于水基模拟物试液, 移取5 mL于顶空瓶中, 加入50 μL正己烷, 压盖密封, 混匀待测; 对于油基模拟物试液, 称取5 g于顶空瓶中, 加入50 μL正己烷, 压盖密封, 混匀待测。

1.4 仪器条件

1.4.1 顶空条件 水基模拟物: 顶空平衡温度80℃, 定量环温度90℃, 传输线温度100℃; 顶空平

衡时间 40 min。

油基模拟物：顶空平衡温度 150 °C，定量环温度 160 °C，传输线温度 170 °C；顶空平衡时间 40 min。

1.4.2 气相色谱条件 DB-5MS 色谱柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)；载气为氦气，流速 1.0 mL/min；分流比 20 : 1；进样口温度 250 °C；柱温程序升温：初始温度 45 °C，以 3 °C/min 升至 75 °C，保持 2 min，后运行 260 °C，保持 3 min；传输口温度 280 °C。

1.4.3 质谱条件 电子轰击离子源(EI)；电离能量 70 eV；离子源温度 230 °C；四极杆温度 150 °C；溶剂延迟 6.0 min；增益因子 1.0；选择离子监测(SIM)模式；ENB 的顺、反式异构体 ENB-1 和 ENB-2 的出峰时间分别为 8.508、8.806 min，定量离子均为 m/z 66，定性离子均为 m/z 91、105、120。

2 结果与讨论

2.1 目标物色谱峰的确定

ENB 在自然界中存在顺、反式异构体，因此色谱图中有两个峰。此两峰的离子碎片及相对丰度基本一致，而本方法无法确认顺、反式异构体的出峰顺序。为避免标准品可能引起的定量误差，比较了 3 种不同来源(上海安谱实验科技股份有限公司、Adamas-beta、Alfa Aesar)标准品的差异。结果显示，3 种标准品均在色谱图中分离出两个峰，峰面积比例基本一致(ENB-1 : ENB-2 ≈ 3 : 1)，且单位浓度的 3 种标准品的峰面积总和相同。因此，本文选择峰面积加和的方式进行定量。4 种模拟物中 ENB 的总离子流图见图 2。

2.2 前处理方法的确定

考察了溶剂提取-直接进样方式对目标物的测定效果。对于水基模拟物，移取 2 mL 试液于 10 mL 离心管中，加入 2 mL 正己烷，涡旋提取 2 min，待静置分层后将上层萃取液移至 10 mL 比色管中，加入 0.5 g 无水硫酸钠脱水后，取 1 mL 上层萃取液至小瓶中待测。对于油基模拟物，称取 1 g 橄榄油于 10 mL 离心管中，加入 4 mL 甲醇，涡旋提取 2 min，静置分层后将上层萃取液移至 10 mL 比色管中，加入 1 g 无水硫酸钠脱水后，取 1 mL 上层萃取液至小瓶中待测。结果表明，在优化实验条件下，水基模拟物中 ENB 的提取回收率可达 90%~110%；但由于橄榄油的主要成分为长碳链脂肪酸，ENB 在橄榄油中具有较好的溶解度，导致甲醇对目标物的提取回收率偏低，最高只能达到 70% 左右。

本文进一步考察了气液平衡-顶空进样方式(样品处理方法见“1.3”) 对目标物的测定效果。结果表明，在优化实验条件下，水基和油基模拟物中 ENB 的回收率均可达 90%~110%，且操作过程更简便。故采用气液平衡-顶空进样的前处理方法。

2.3 顶空进样条件的优化

2.3.1 顶空平衡温度的确定 气液分配受温度的影响较大，通常提高平衡温度可减少达到平衡所需的时间，但温度过高不仅会增大溶剂峰的干扰，还可能破坏平衡的稳定性，并延长分析时间^[16]。本文考察了不同平衡温度(70、80、85、90、95 °C) 对水基模拟物中目标物测定的影响(图 3A)。结果表明，对于水和 4% 乙酸两种模拟物，随着平衡温度的升高，目标物的色谱峰面积呈先增大后减小的趋势；当平衡温度达到 80 °C 时，目标物的色谱峰面积最大；当平衡温度高于 85 °C 时，可能由于进入质谱仪的水分较多，目标物的色谱峰面积反而下降；同时，色谱柱的柱效下降明显，峰形拖尾严重，目标物

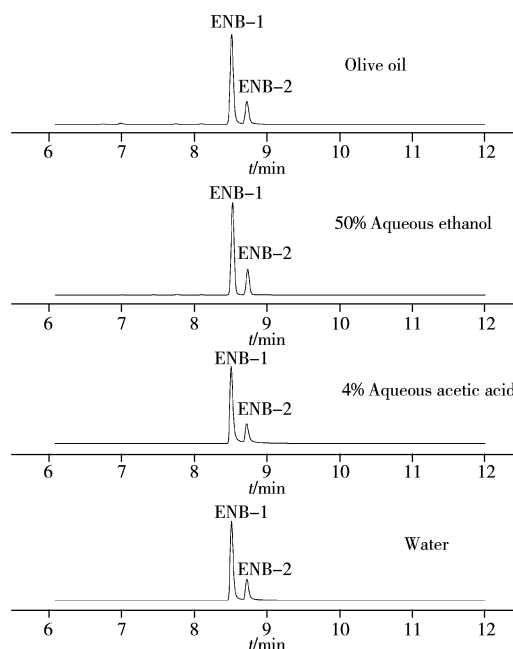


图 2 4 种模拟物中 ENB 的总离子流色谱图
Fig. 2 Total ion chromatograms of ENB with four food simulated solutions

顺反异构体的分离度变差,影响准确定量和色谱柱的使用寿命。对于50%乙醇模拟物,由于乙醇为挥发性物质,所以随着温度的变化,目标物的色谱峰面积基本保持不变。

同时,考察了平衡温度(70、80、85、90、95℃)对油基模拟物中目标物测定的影响。结果表明,目标物的色谱峰面积随平衡温度的升高而增大。为提高目标物的响应,进一步考察了平衡温度为90、110、130、150、170℃时对油基模拟物中目标物测定的影响(图3B)。结果显示,随着平衡温度的升高,目标物的色谱峰面积明显增大,但当温度高于150℃时,油基模拟物引入的杂质增多,对目标物造成干扰,影响定量和定性结果。综合考虑,水基模拟物的平衡温度选择80℃,油基模拟物的平衡温度选择150℃。

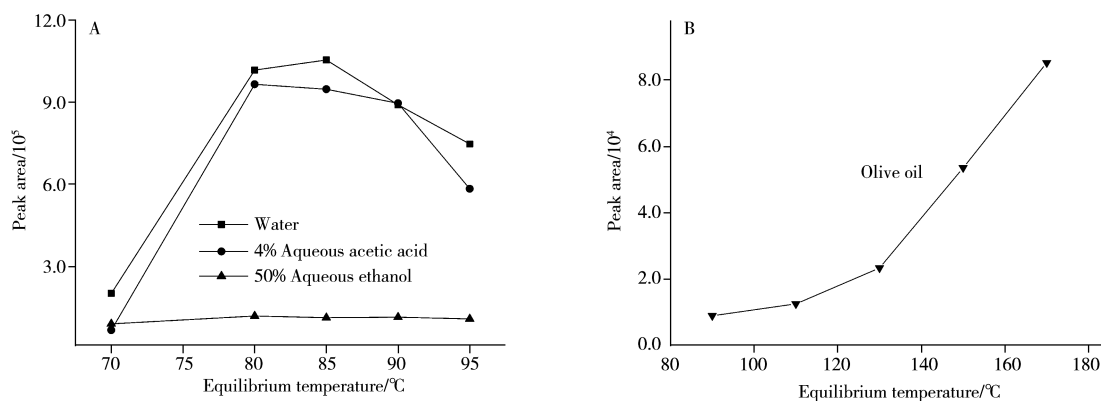


图3 平衡温度对水基模拟物(A)和油基模拟物(B)中目标物色谱峰面积的影响

Fig. 3 Effect of equilibrium temperature on peak area of target compound in the water-based analogue(A) and the oil-based analogue(B)

2.3.2 顶空平衡时间的确定 气液两相达到平衡的时间主要与待测物的挥发性和平衡温度有关。通常待测物的挥发性越强,平衡温度越高,达到平衡的时间越短^[13]。在优化的平衡温度下,考察了平衡时间(30、40、50、60、70 min)对目标物测定的影响。结果表明,在30~40 min内,随着平衡时间的增加,目标物的色谱峰面积明显增加;当平衡时间达40 min后,峰面积基本保持不变。为节省时间,并保证气液两相完全达到平衡,本文选择平衡时间为40 min。

2.4 线性关系与检出限

取“1.2”配制的标准工作曲线溶液,在优化实验条件下,对ENB进行测定,以质量浓度(x , mg/L)为横坐标,以顺、反式结构的峰面积之和(y)为纵坐标绘制标准曲线,结果见表2。结果表明,在0.1~10 mg/L范围内,ENB的线性关系良好,相关系数(r)大于0.999。方法的检出限(LOD, $S/N \geq 3$)为0.01 mg/kg,定量下限(LOQ, $S/N \geq 10$)为0.03 mg/kg。方法的灵敏度满足GB 9685-2016标准中对ENB的限量要求($SML = 0.05$ mg/kg)。

表2 ENB在4种模拟物中线性方程、相关系数(r)、检出限、定量下限、回收率及相对标准偏差
Table 2 Linear equations, correlation coefficients(r), limits of detection(LODs), limits of quantitation(LOQ), recoveries and relative standard deviations(RSDs) of ENB in four food simulated solutions

Food simulated solution	Linear equation	r	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	Spiked (mg/L)	Recovery (%)	RSD(% , $n = 5$)
Water	$y = 712\ 600x - 18\ 920$	0.999 4	0.01	0.03	0.1, 1.0, 10	92.3, 92.0, 96.2	2.4, 3.0, 2.9
4% Acetic acid	$y = 790\ 600x - 15\ 250$	0.999 5	0.01	0.03	0.1, 1.0, 10	95.2, 98.8, 100	4.0, 1.3, 3.9
50% Ethanol	$y = 80\ 370x - 7\ 331$	0.999 3	0.01	0.03	0.1, 1.0, 10	101, 99.8, 102	1.3, 2.8, 0.9
Olive oil	$y = 73\ 680x - 1\ 837$	0.999 8	0.01	0.03	0.1, 1.0, 10	108, 103, 96.2	2.3, 1.9, 1.7

2.5 回收率与相对标准偏差

选取水、4%乙酸、50%乙醇和橄榄油4种模拟物,分别加入0.1、1.0、10 mg/L 3个水平的ENB标准溶液,每个水平做5个平行试样,计算平均回收率和相对标准偏差(RSD, $n = 5$)。结果显示,3个加标水平下的回收率为92.0%~108%,RSD为0.9%~4.0%(见表2),符合分析方法的相关要求。

2.6 实际样品的检测

根据 ENB 在 高分子材料中的应用, 选择奶瓶、酸奶瓶、瓶盖等聚丙烯 (PP) 塑料材质或橡胶密封圈共 19 份样品, 按照 GB/T 31604.1-2015^[14] 和 GB/T 5009.156-2016^[15] 的要求, 选择橄榄油作为食品模拟物, 迁移温度 40 °C, 迁移时间 24 h。对实际样品进行迁移实验, 得到模拟物试液后, 按本方法进行检测, 检测结果显示样品均为阴性。

3 结 论

本文通过顶空/气相色谱-质谱联用建立了食品接触材料中 ENB 迁移量的检测方法, 并应用该方法对实际样品进行测定, 有效地支持了 GB 9685-2016 《食品安全国家标准 食品接触材料及制品用添加剂使用标准》的实施。方法操作简单、定性定量准确, 灵敏度高、重现性好, 满足实际检测需求, 可为监管部门实施产品质量监控, 生产企业实现产品质量提升提供可靠的技术支持。

参考文献:

- [1] Zhang Y J, Zhang C M, Du L Y, Li Q, Zhang Y Q. *New Chem. Mater.* (张亚杰, 张朝明, 杜丽媛, 李权, 张玉清. 化工新型材料), **2016**, 44(7): 21-23.
- [2] Chen Y, Pan F F. *Technol. Econom. Petrochem.* (陈亚, 潘凡峰. 石油化工技术与经济), **2009**, 25(22): 42-45.
- [3] Ravishankar P S. *Rubber Chem. Technol.*, **2012**, (85): 327-349.
- [4] Fang J, Jin D M, Tian X J, Liu Y M, Niu J Z. *Chin. Elastom.* (方健, 金冬梅, 田晓军, 刘艳梅, 牛建洲. 弹性体), **2017**, 27(5): 53-56.
- [5] GB 9685-2016. National Food Safety Standard - Standard for the Use of Additives in Food Contact Materials and Articles. National Standard of the People's Republic of China(食品安全国家标准 食品接触材料及制品用添加剂使用标准. 中华人民共和国国家标准).
- [6] Xu D J, Sun X D, Cao H S, Qiu C P, Xu D. *Chem. Eng. Equip.* (徐迪静, 孙向东, 曹恒升, 邱从平, 徐东. 化学工程与装备), **2016**, (5): 254-256.
- [7] Sung S C, Yun K K. *Polym. Test.*, **2011**, (30): 509-514.
- [8] Dol I, Knochen M. *Talanta*, **2004**, 64: 1233-1236.
- [9] Joos P E, Godoi A F L, Jong R D, Zeeuw J D, Grieken R V. *J. Chromatogr. A*, **2003**, 985: 191-196.
- [10] Xie W J, Liu C S, Xie Y P, Xiong X T, Xi S F, Chen Y G, Hu X L, Wu Y L. *J. Instrum. Anal.* (谢文斌, 刘春生, 谢永萍, 熊小婷, 席绍峰, 陈意光, 胡晓露, 吴玉玺. 分析测试学报), **2015**, 34(2): 183-188.
- [11] Yang Q, Liu S D, Zhao L L, Gong Z L. *J. Instrum. Anal.* (杨琦, 刘世栋, 赵丽莉, 巩泽龙. 分析测试学报), **2017**, 36(7): 870-875.
- [12] Han C, Sun D Z, Zuo Y, Lu C Q, Liu J. *J. Instrum. Anal.* (韩陈, 孙多志, 左莹, 禄春强, 刘峻. 分析测试学报), **2016**, 35(7): 901-904.
- [13] Wei Z, Huang H. *Chem. Bioeng.* (魏争, 黄洪. 化学与生物工程), **2009**, 26(8): 83-84.
- [14] GB 31604.1-2015. National Food Safety Standard - General Rules for Migration Test of Food Contact Materials and Their Products. National Standard of the People's Republic of China(食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验通则. 中华人民共和国国家标准).
- [15] GB 5009.156-2016. National Food Safety Standard - General Rules of the Migration Test Pretreatment Methods of Food Contact Materials and Articles. National Standard of the People's Republic of China(食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验预处理方法通则. 中华人民共和国国家标准).
- [16] Che W J, Shen J, Wang Y Q, Wang X D, Pu J. *J. Instrum. Anal.* (车文军, 沈珺, 王燕芹, 王小丹, 浦婕. 分析测试学报), **2017**, 36(5): 697-700.