

超高压液相色谱法测定食品接触材料印刷 油墨中光引发剂

韩伟¹, 庞震¹, 张媛媛¹, 李宁涛¹, 王利兵^{2*}

(1. 天津出入境检验检疫局工业产品安全技术中心, 天津 300042; 2. 湖南出入境检验检疫局技术中心, 长沙 410004)

摘要: **目的** 建立超高压液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-DAD)快速测定食品接触材料表面印刷油墨中光引发剂的分析方法。**方法** 以30余种食品接触材料为原料, 采用65%乙醇和正己烷作为食品模拟物模拟含酒精和脂肪食品, 分别在5℃和40℃的温度下进行240 h的迁移试验。迁移后的模拟液经浓缩、净化、重新溶解并过滤后直接用UPLC-DAD进行分析。**结果** 线性范围为0.1~500.0 μg/L, 检出限为0.005 μg/dm², 空白样品的加标回收率为79.8%~92.3%。ITX和EHDAB在食品接触材料中一般协同出现, 其迁移水平分别为0.11 μg/dm²和0.092~0.370 μg/dm²。**结论** 超高压液相色谱-二极管阵列检测器(UPLC-DAD)可以快速测定食品接触材料表面印刷油墨中光引发剂。

关键词: 食品接触材料; 印刷油墨; 光引发剂; 迁移试验; 液相色谱

Determination of photo-initiators in printing ink on food contact material by ultra-pressure liquid chromatography

HAN Wei¹, PANG Zhen¹, ZHANG Yuan-Yuan¹, LI Ning-Tao¹, WANG Li-Bing^{2*}

(1. Technical Center For Safety of Industrial Products of Tianjin Entry-Exit Inspection Quarantine Bureau, Tianjin 300042, China; 2. Technology Center of Hunan Entry-Exit Inspection Quarantine Bureau, Changsha 410004, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of photo-initiators in printing ink on the food contact materials by ultra-pressure liquid chromatography-diode array detector (UPLC-DAD). **Methods** Migration test was studied using 65% of n-hexane as analog simulation of alcohol and fat food respectively, under the temperature of 5 °C and 40 °C in 240 h. After concentrated, purified, redissolved and filtered, the migrated simulating liquid was analyzed by UPLC-DAD. **Results** The method showed a good linearity over the range of 0.1~500 μg/L, and the detection limit was 0.005 μg/dm². The recoveries were 79.8%~92.3%. ITX and EHDAB usually appeared together in food contact materials, and its migration levels were 0.11 μg/dm² and 0.092~0.37 μg/dm². **Conclusion** The ultra-pressure liquid chromatography-diode array detector (UPLC-DAD) can be used for the rapid determination of photo-initiators in printing ink on food contact material.

KEY WORDS: food contact material; printing ink; photo-initiators; migration test; liquid chromatography

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAK10B05, 2012BAD29B05)

Fund: Supported by the Projects in the National Science & Technology Pillar Program during the Twelfth Five-year Plan Period(2011BAK10B05, 2012BAD29B05)

*通讯作者: 王利兵, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全及包装材料安全检测。E-mail: wanglb@hnciq.gov.cn

*Corresponding author: WANG Li-Bing, Professor, Technical Center of Hunan Entry-Exit Inspection & Quarantine Bureau, No.188, Xiang-fuzhong Road, Yuhua District, Changsha 410004, China. E-mail: wanglb@hnciq.gov.cn

1 引言

2005年发生在欧盟国家的雀巢婴儿配方奶召回事件因为包装配方奶纸盒表面印刷油墨中含有2-异丙基硫杂蒽酮(ITX)和*N,N*-二甲氨基苯甲酸异辛酯(EHDAB)^[1]。ITX是一种新型的自由基型高分子光引发剂,而EHDAB作为ITX的协同试剂,主要是增强ITX在油墨中的固化作用^[2]。欧洲食品安全局(ESFA)的毒理学报告表明ITX和EHDAB不具有遗传毒性和生殖毒性^[3],但由于其高度亲脂性,细胞长时间低含量接触ITX和EHDAB会引发细胞膜的破裂,最终导致细胞某些功能的丧失^[4]。为此,德国联邦风险评估中心(BfR)建议食品接触材料用印刷油墨中ITX和EHDAB的迁移限量为500 mg/g食品^[5]。

目前,食品接触材料印刷油墨中光引发剂的检测主要有气相色谱法(GC)和液相色谱法(LC),检测对象主要集中在液体食品中的ITX上^[6-8]。2008年,Sanches-Silva等^[9]对包装液体奶的纸盒中的五种光引发剂建立了LC-DAD和LC-MS检测法,根据检测结果,他们计算出不同光引发剂在包装纸盒中的扩散速率以及这些光引发剂在纸盒与液态奶之间的分配系数^[10];生茂强等^[11]对液体饮料中的ITX和EHDAB的残留建立了LC-MS/MS检测法,该方法的定量下限为0.1 mg/g。

本研究采用UPLC-DAD对30余种食品接触材料(包括纸质和塑料包装等)中的两种光引发剂(图1)的迁移进行了分析研究。根据我国标准和法规对食品接触材料的前处理要求,样品经食品模拟物浸泡以后,通过提取和净化模拟液后直接进样分析。该分析方法前处理简单,方法的定量限满足国内外法

规对光引发剂的限量要求,可以作为进出口食品接触材料印刷油墨中光引发剂检测的常规方法加以应用。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器

试验标准溶液和试样溶液采用Waters Acquity UPLC[®]进行分析,光电二极管阵列检测器(UPLC-DAD)检测,分离后的组分定量在Empower[™](2.0版本)工作站完成。旋转蒸发器(瑞士BUCHI公司, Rotavapor R-215);氮吹仪(美国Organomation Associates公司, N-EVAP 112)。

2.1.2 试剂

分析用标准品EDAB(98.0%)购自J&K公司,ITX(98.9%)购自AccuStandard[®]公司。溶剂甲醇(HPLC级)和正己烷(HPLC级)购自Merck公司,无水乙醇(99.7%)购自天津市风船化学试剂科技有限公司。实验用水取自MilliPore Elix 5纯水仪系统。

2.1.3 试验样品

试验用样品取自天津地区食品和食品包装生产企业,样品抽取集中在表面涂覆有印刷油墨的单层塑料包装、复合塑料包装、纸塑复合包装以及纸质包装材料。抽检的试样在经食品模拟物浸泡之前先在恒温恒湿环境中静置24 h以上。

2.1.4 标准溶液

分别称取0.01 g的两种标准样品,用少量甲醇溶解后转移到100 mL的容量瓶中,并用甲醇定容至刻度,摇匀。两种标准品溶液先经UPLC-DAD分析后,以相对保留时间进行定性。根据需要,取不同体积的混合标准母液,用甲醇配制不同浓度的混合标准溶液。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

抽取的食品接触材料的前处理参照欧盟指令进行。从图1化合物的辛醇-水分配系数(Log K_{ow})得知,待测目标物在水中溶解度较低,本试验选择65%乙醇溶液和正己烷两种模拟物进行迁移试验。迁移试验的试验条件参照欧洲标准方法进行,即对于需要在低温冷藏保鲜的食品,相应的外包装材料在5℃条件下进行240 h迁移试验,而对于常温贮存食品,

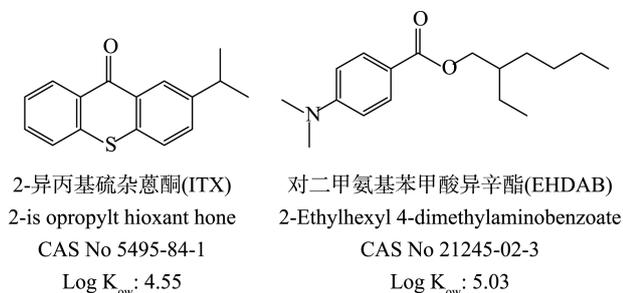


图1 两种光引发剂的分子结构图及其正辛醇/水分配系数(Log K_{ow})

Fig. 1 Chemical structure and octanol-water partition coefficients of two photoinitiators

其外包装在 40 °C 条件下进行 240 h 迁移试验^[12]。

将得到的 65%乙醇浸泡液利用旋转蒸发器蒸发至近干,加入少许的正己烷/乙酸乙酯(30/70)对蒸发残渣重新溶解,然后在氮吹仪上以 5 L/min 的流速除去绝大部分混合溶剂后,将残渣溶解在 5 mL 的甲醇溶液中。移取适量甲醇溶液,经孔径为 0.2 μm 的亲水性聚丙烯滤膜过滤之后,滤液收集于样品瓶中供仪器分析使用。

将正己烷浸泡液旋转蒸发至近干以后,蒸发残渣用 5 mL 甲醇重新溶解,然后取适量的甲醇溶液经 0.2 μm 的亲水性聚丙烯滤膜过滤之后,滤液收集于样品瓶中供仪器分析使用。

2.2.2 仪器条件

6 种目标分析物的分离采用 Acquity UPLC[®] BEH C₁₈(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)色谱柱完成,柱温为 35 °C。梯度洗脱溶剂为水(A)和甲醇(B),洗脱程序为:0~8 min 内 A 从 80%线性地变化到 10%,8.1 min 时变回到 80%并保持到 10 min;流动相流速为 0.4 mL/min;进样量为 10 μL;强洗针溶剂为甲醇/水(90/10, 600 μL),弱洗针和密封圈洗涤溶剂为甲醇/水(10/90, 600 μL)。PDA 检测器扫描范围为 190~400 nm,数据采集速率为 20 点/s,光谱扫描分辨率为 1.2 nm。

3 结果与分析

3.1 迁移条件的选择

本研究参照欧洲指令对食品接触材料样品进行前处理,根据食品接触材料预包装食品类型的不同,选择 65%乙醇和正己烷作为食品模拟物,迁移条件选择最苛刻的条件进行,即对于包装需低温冷藏食品的食品接触材料,迁移温度选择为 5 °C,迁移时间为 240 h,而对于包装常温贮存食品的食品接触材料,迁移温度为 40 °C,迁移时间为 240 h。迁移条件确定后,考察了迁移温度和迁移时间对目标光引发剂迁移的具体影响。

除 65%乙醇溶液和正己烷作为模拟物外,本研究还考察了二氯甲烷、乙腈和乙酸乙酯作为模拟物时对光引发剂的萃取能力。结果表明,相比其他四种模拟物,在相同的迁移时间和迁移温度下,正己烷溶出光引发剂的效果最差,乙腈次之,而乙酸乙酯和二氯甲烷的溶出效果最好,造成溶出效果差异的原因可

能是以下两个方面的原因造成:一是不同极性的溶剂对食品接触材料基质(如塑料、纸塑复合或纸)的溶解能力差异造成,二是不同极性的溶剂对光引发剂溶解能力的差异造成。

3.2 UPLC-PDA 分析条件优化

2 种光引发剂采用表面硅羟基含量较少的 C₁₈ 反相柱进行分离。综合考虑流动相的极性和目标分析物的溶解性,梯度洗脱溶剂选择甲醇和水,结果表明,2 种光引发剂能够实现较好的分离。利用 DAD 作检测器时,先采用 3D 扫描方式以确定每种光引发剂的最大吸收波长,通过确定最大吸收波长后在 2D 扫描模式中同时开通 2 个波长的扫描通道,即可实现 2 种光引发剂的定性和定量分离(图 2)。

3.3 方法评价

3.3.1 方法的线性、检出限、定量限和精密度

配制一系列浓度的标准溶液进行测定,以目标化合物的离子流色谱峰面积为纵坐标(Y),标准混合溶液的质量浓度(μg/L)为横坐标(X),绘制标准曲线,得到线性拟合方程(表 1)。以 UPLC-DAD 对两在空白模拟物中添加不同水平的标准样品进行回收率试验以验证该分析方法的适用性(表 2),方法的回收率在 79.8%~92.3%,完全能够达到德国 BfR 和欧盟 SCFCAH 关于光引发剂的迁移限量要求,能够作为出入境食品接触材料中光引发剂常规检测的常规分析方法。

3.3.2 实际样品测定

采用 UPLC-DAD 对抽检自天津地区食品接触材料生产企业的产品进行表面印刷油墨中光引发剂的检测。对 30 余种塑料、纸质以及纸塑复合食品接触材料的检测结果表明(表 3),印刷油墨中光引发剂不单独存在,ITX 和 EHDAB 一般协同出现,迁移水平分别为 0.11 μg/dm²和 0.092~0.37 μg/dm²。

4 结论

采用高压液相色谱-二极管阵列检测法建立了食品接触材料表面印刷油墨中光引发剂的分析方法。两种光引发剂的线性范围为 0.1~500.0 μg/L,检出限为 0.005 μg/dm²,空白样品的加标回收率为 79.8%~92.3%。食品接触材料样品经食品模拟物进行迁移试验后,UPLC-DAD 的检测结果表明,ITX 和 EHDAB 在食品接触材料中一般协同出现,其迁移水平分别为 0.11 μg/dm²和 0.092~0.370 μg/dm²。

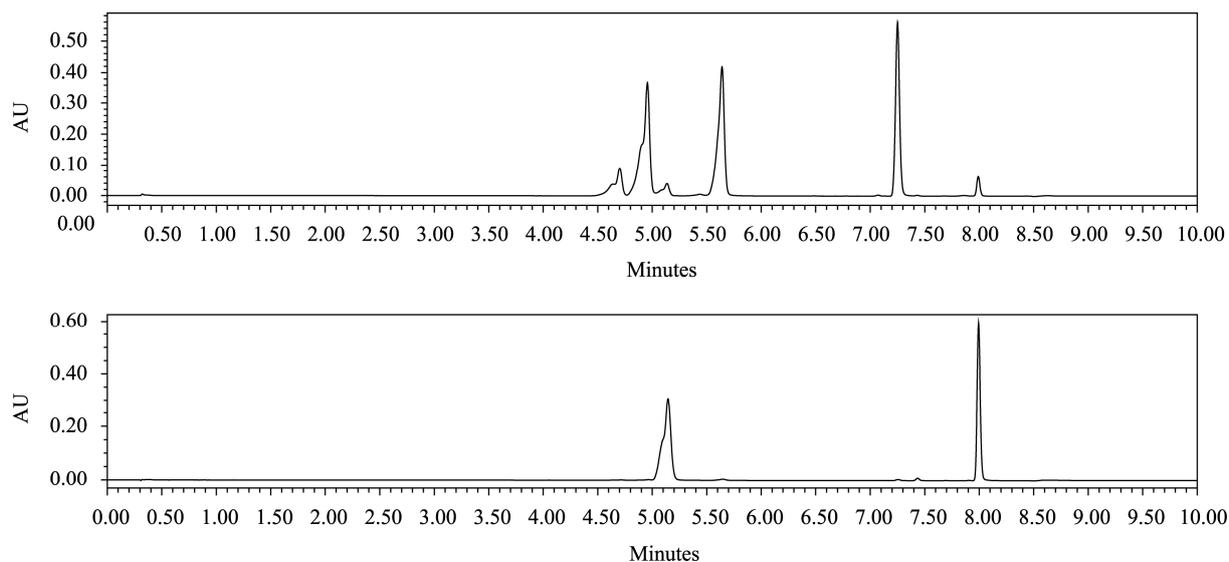


图2 光引发剂混合标准溶液的多通道2D色谱分离图(ITX, 4.0 mg/L, 上; EHDAB, 6.86 mg/L, 下)
Fig. 2 Liquid chromatograms of the mixed standard solution obtained by 2D scan method in multi-channels (ITX, 4.0 mg/L, up; EHDAB, 6.86 mg/L, down)

表1 两种光引发剂的线性方程、相关系数、回收率、相对标准偏差和检出限结果

Table 1 Linear equations, linear range, limit of determination (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the two photoinitiators by UPLC-DAD

光引发剂	线性方程	保留时间 (min)	最大吸收波长 (nm)	R^2	线性范围(μ g/L)	仪器检出限 (μ g/dm ²)	方法检出限 (μ g/dm ²)
ITX	$Y=721.837X+56500$	7.355	260	0.9956	0.1~500.0	0.015	0.005
EHDAB	$Y=148.769X+29329$	8.088	314	0.9980	0.1~500.0	0.016	0.005

表2 针对空白样品(正己烷, 20 °C)的两种光引发剂的回收率和精密度($n=6$)

Table 2 Recoveries and repeatability ($n=6$) of two photoinitiators in spiked blank samples (*n*-hexane, 20 °C)

光引发剂	ITX	EHDAB
添加水平/(μ g/L)	0.5	1
回收率/(%)	78.9	89.1
RSD/(%)	0.8	0.7

表3 天津地区食品接触材料生产企业产品中光引发剂迁移量结果

Table 3 Migration levels of six photoinitiators from packaging materials manufactured by Tianjin local food packagings factories

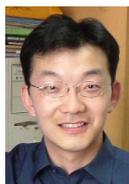
样品	材质	迁移条件	ITX(μ g/dm ²)	EHDAB(μ g/dm ²)
牛奶盒	纸塑复合	65%乙醇, 5 °C	-	-
		65%乙醇, 40 °C	-	-
		正己烷, 5 °C	0.11	0.37
果汁盒	纸塑复合	65%乙醇, 5 °C	-	-
		65%乙醇, 40 °C	-	0.27
		正己烷, 5 °C	0.10	0.092

参考文献

- [1] Nestlé Company. Nestlé and the ITX Recall [EB/OL]. 2005-11-24. http://www.nestle.com/Media_Center/ITX_recall_23_Nov05.htm.
- [2] Dietliker K, Hüsler R, Birbaum JL, *et al.* Advancements in photoinitiators-opening up new applications for radiation curing [J]. *Prog Org Coat*, 2007, 58(2/3): 146–157.
- [3] Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a Request from the Commission related to 2-Isopropyl thioxanthone (ITX) and 2-ethylhexyl-4-dimethylaminobenzoate (EHDAB) in food contact materials. *EFSA J*, 2005, 293: 1–15.
- [4] Constituents of Printing Inks in Beverages from Cartons. BfR Expert Opinion No. 044/2005, 25 November 2005.
- [5] Gertrud M, Wolfgang S. Determination of isopropylthioxanthone (ITX) in milk, yoghurt and fat by HPTLC-FLD, HPTLC-ESI/MS and HPTLC-DART/MS [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 385(3): 586–595.
- [6] Papilloud S, Baudraz D. Analysis of food packaging UV inks for chemicals with potential to migrate into food stimulants [J]. *Food Addit Contam*, 2002, 19(2): 168–175.
- [7] Benetti C, Angeletti R, Binato G, *et al.* A packaging contaminant: isopropylthioxanthone (ITX) in dairy products [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 617(1/2): 132–138.
- [8] Rothenbacher T, Baumann M, Fügél D. 2-isopropylthioxanthone (2-ITX) in food and food packaging materials on the German market [J]. *Food Addit Contam*, 2007, 24(4): 438–444.
- [9] Sanches-Silva A, Pastorelli S, Cruz JM, *et al.* Development of an analytical method for the determination of photoinitiators used for food packaging materials with potential to migrate into milk [J]. *J Dairy Sci*, 2008, 91(3): 900–909.
- [10] Sanches-Silva A, Pastorelli S, Cruz JM, *et al.* Development of a method to study the migration of six photoinitiators into powdered milk [J]. *J Agr Food Chem*, 2008, 56(8): 2722–2726.
- [11] 生茂强, 邓晓军, 郭德华, 等. 液相色谱-串联质谱法对光引发剂异丙基硫杂蒽酮与对-N,N-二甲氨基苯甲酸异辛酯残留量的检测[J]. *分析测试学报*, 2009, 28(1): 12–17.
- Sheng MQ, Deng XJ, Guo DH, *et al.* Determination of Photoinitiators 2-Isopropyl Thioxanthone and 2-Ethylhexyl-4-dimethylaminobenzoate Residues by Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2009, 28(1): 12–17.
- [12] EN 13130-1 Materials and articles in contact with foodstuffs-Plastics substances subject to limitation-Part 1: Guide to the test methods for the specific migration of substances from plastics into food and food simulants and the determination of substances in plastics and the selection of conditions of exposure to food stimulants [S].

(责任编辑:赵静)

作者简介



韩伟, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品接触材料安全检测。

E-mail: xxxx



王利兵, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全及包装材料安全检测。

E-mail: wanglb@hnciq.gov.cn