

超高效液相色谱-串联质谱法测定食品接触材料中油酸酰胺的迁移量

晏 嫣*, 张 阳, 姜德玮, 向 斌, 宋锦柱

(江苏省产品质量监督检验研究院, 国家食品包装检测中心, 南京 210007)

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法测定食品接触材料中油酸酰胺迁移量的分析方法。**方法** 按照 GB 5009.156-2016《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》的要求配制 5 种食品模拟液, 并按照标准要求进行浸泡试验, 浸泡液经过滤后进样, 经过 ZORBAX C₁₈ (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm) 色谱柱分离, 在正离子模式下以电喷雾电离多反应监测模式进行定性和定量分析。**结果** 5 种食品模拟物(4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇、50%乙醇以及 95%乙醇)中的油酸酰胺在 0.25~5.0 mg/L 浓度范围具有较好线性, 相关系数(r^2)均大于 0.9990, 方法检出限为 0.001~0.002 mg/L, 方法定量限为 0.003~0.005 mg/L, 油酸酰胺在 3 个浓度水平的加标回收率为 90.3%~117.1%, 相对标准偏差为 0.20%~2.10% ($n=6$)。**结论** 该方法灵敏、准确, 能够满足食品接触材料中油酸酰胺的迁移量的检测。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 食品接触材料; 油酸酰胺; 食品模拟物; 迁移; 食品安全

Determination of oleamide migration from food contact materials by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YAN Yan*, ZHANG Yang, JIANG De-Wei, XIANG Bin, SONG Jin-Zhu

(Jiangsu Quality Supervision and Testing Institute, National Center for Packing Products Quality Supervision and Testing, Nanjing 210007, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of oleamide migration from food contact materials by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** According to the GB 5009.156-2016 *National food safety standards-Food contact materials and products migration test pretreatment methods*, 5 kinds of food simulation solutions were prepared. After the test of soaking, the solutions were detected by UPLC-MS/MS. Oleamide was separated by ZORBAX C₁₈ (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm) chromatographic column. The eluent was qualitatively and quantitatively determined by mass spectrometer with electrospray ionization in positive multiple reaction monitoring mode. **Results** Oleamide had good linear relationship in 5 kinds of food simulation solutions in the range of 0.25-5.0 mg/L with correlation coefficients more than 0.9990. The limits of detection of oleamide were 0.001-0.002 mg/L, the limit of quantification was 0.003-0.005 mg/L. The recoveries of oleamide at 3 spiked levels were 90.3%-117.1%, and the relative standard deviations (RSDs) were 0.20%-2.10% ($n=6$). **Conclusion** This method is accurate and reliable, which is suitable for the determination of oleamide migration in 5 kinds of food simulation solutions.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; food contact materials;

*通讯作者: 晏嫣, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品包装材料及制品卫生安全预警。E-mail: yshwqgyy@sina.com

*Corresponding author: YAN Yan, Master, Engineer, Jiangsu Quality Supervision and Testing Institute, No.5 Guanghuadongjie Road District, Nanjing 210007, China. E-mail: yshwqgyy@sina.com

oleamide; food simulation; migration; food safety

1 引言

食品接触材料中有毒有害物质向食品的迁移是造成食品污染的重要途径之一。这类有毒有害物质主要来自树脂本身、材料单体、裂解物以及塑料制品在制造过程中添加的稳定剂、增塑剂、着色剂等^[1]。原国家卫生和计划生育委员会针对塑料食品包装材料中添加剂出台了食品安全国家标准,并给出了塑料食品接触材料中允许使用添加剂的名录,即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》^[2]。该标准针对部分有毒有害物质在塑料食品包装材料中的迁移量以及含量提出了限量要求,并提供了相应的检测方法。但国家标准中允许使用的添加剂列表中还有很大一部分物质并未明确标出使用限量(生产厂家按生产需要添加)和检测方法,油酸酰胺位于其列。

油酸酰胺作为常用的塑料生产添加剂,在塑料加工中可以起到爽滑、润滑、脱模、抗粘、抗结块、抗湿、增加制品表面光亮度等作用,与不同材料的树脂均具有很好的相容性,不影响最终产品的透明性和物理性质,是公认的理想高效塑料加工无毒添加剂^[3]。油酸酰胺并不属于有毒有害物质,但其与人体的各项生理活动及代谢过程密切相关,属于内源性并具有生物活性的一类物质^[4]。1989年科学家首次在睡眠不足的老鼠脑脊液中分离得到油酸酰胺,并发现该物质会诱发老鼠的生理性睡眠^[5]。此外有动物实验表明,油酸酰胺在催眠和抗抑郁症的治疗方面有一定的药理学作用^[6]。生理代谢研究方面,发现啮齿类动物血液中的油酸酰胺参与饱腹感的调节,该调节作用对肥胖症的治疗具有药理学意义^[7]。

油酸酰胺的塑料食品包装材料的使用是其进入人体的一个重要途径^[8],通过外源途径进入人体的油酸酰胺有可能对人体的各项生理过程和代谢产生干扰。但目前有关塑料食品接触材料中油酸酰胺迁移量检测方法的报道较少。油酸酰胺属于酰胺类物质,蔡翔宇等^[9-15]利用超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中6种玛咖酰胺。王兴宁^[16]利用气相色谱-质谱串联方法测定烟草中的10种酰胺类除草剂。房宁等^[17,18]利用气相色谱-质谱法测定食品接触材料中润滑剂在脂类食品模拟物中的迁移量,该方法利用衍生试剂将油酸酰胺等润滑剂先衍生再用仪器检测,检测时间较长,实验过程繁复。Lv等^[19]采用气相色谱-质谱法建立了聚乙烯薄膜中5种脂肪酸含量的检测方法。本研究采用超高效液相色谱-串联质谱法技术,建立了塑料食品接触材料中油酸酰胺迁移量的检测方法。该方法准确、灵敏,具有良好的回收率和精密度,为定性、定量分析食品模拟物中油酸酰胺的迁移量提供准确、有效的检测方法。

2 材料与方法

2.1 试剂与仪器

油酸酰胺标准品(纯度 99.0%, 不确定度 $\pm 0.5\%$)(上海安谱实验科技公司); 甲醇[色谱纯, 美国 Tedia(天地)试剂公司]; 乙腈(色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 乙醇、乙酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1290infinity-G6460A 超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Agilent 公司); 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 超纯水净化系统(美国赛默飞世尔科技有限公司), 精密鼓风干燥箱(上海恒一精密仪器有限公司)。

2.2 样品前处理

食品模拟液制备: 4%乙酸溶液、10%乙醇、20%乙醇、50%乙醇、95%乙醇(V:V)

4%乙酸溶液(V:V): 量取 20.0 mL 冰醋酸, 加 480 mL 水, 混匀。

10%乙醇溶液(V:V): 量取 50.0 mL 无水乙醇, 加 450 mL 水, 混匀。

20%乙醇溶液(V:V): 量取 100.0 mL 无水乙醇, 加 400 mL 水, 混匀。

50%乙醇溶液(V:V): 量取 250.0 mL 无水乙醇, 加 250 mL 水, 混匀。

95%乙醇溶液(V:V): 量取 475.0 mL 无水乙醇, 加 25 mL 水, 混匀。

浸泡液制备: 按照 GB 5009.156^[20]标准配制模拟液, 并按照标准要求浸泡食品包装材料, 试验后获得的浸泡液经过 0.45 μm 滤膜过滤后用超高效液相色谱-串联质谱仪检测。本实验采用的样品均为室温下罐装并长期贮存的食物包装容器, 根据样品的实际使用情况选择在精密鼓风干燥箱中设定贮存温度 40 $^{\circ}\text{C}$, 容器与模拟液接触时间 10 d 为实验条件, 预期接触食品模拟液类别为 4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇、50%乙醇以及 95%乙醇。

2.3 色谱与质谱分析条件

色谱条件: ZORBAX C₁₈(3.0 mm \times 100 mm, 1.8 μm)色谱柱; 流动相: 甲醇: 0.1%乙酸(V:V, 95:5); 等梯度洗脱; 流速 0.3 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样时间: 4 min。

质谱条件: 离子源: 电喷雾离子源(electron spray ionization, ESI); 扫描方式: 正离子模式; 检测方法: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 干燥气温度: 350 $^{\circ}\text{C}$; 干燥气流速: 11 L/min; 雾化器压力: 45 psi; 毛细管电压: 3500 V; 碎裂电压: 125 V。具体数据见表1, 油酸酰胺质量色谱图见图1。

表1 油酸酰胺质谱参数
Table 1 Mass spectrometry parameters for oleamide

化合物	分子式	保留时间	母离子/(m/z)	子离子	碎裂电压/V	碰撞气能量/eV
油酸酰胺	$C_{18}H_{35}NO$	2.623	282.2	247.3* 265.2	125	8

注: *为定量碎片离子。

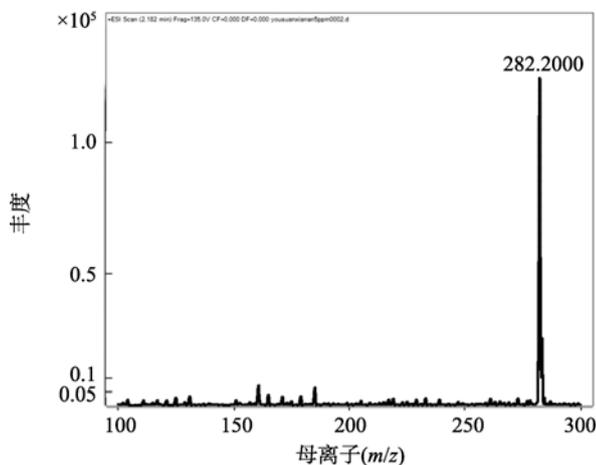


图1 油酸酰胺质量色谱图
Fig.1 Mass spectrum of oleamide

2.4 标准溶液的配制

准确称取 25.0 mg 油酸酰胺于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解, 配制成 1000 mg/L 浓度储备液, 避光冷藏。取上述储备液配制成 100 mg/L 中间液。精密量取适量中间液配制工作液, 分别用不同类型模拟液配制成 0.25、0.5、1、2、5 mg/L 的标准工作溶液。

3 结果与分析

3.1 液相条件的优化

流动相的选择和洗脱方式是影响色谱分析的重要因素。实验对比了乙腈-水和甲醇-水两种流动相的洗脱效果。结果显示采用乙腈-水流动相时, 出峰分离效果不佳, 采用甲醇-水流动相时目标峰分离效果较为理想, 达到定量要求。在甲醇-水中加入 0.1% 乙酸后, 目标峰响应值有所提高, 故选择甲醇-0.1% 乙酸溶液(V:V, 95:5)作为流动相(见图 2)。

3.2 质谱条件的优化

在正离子模式下对 5 mg/L 浓度的标准溶液进行一级质谱全扫描, 确定油酸酰胺母离子为 282.2 m/z 。油酸酰胺由于在正模式下容易和其他阳离子结合, 可以形成 $[M+H]^+$ 峰和 $[M+Na]^+$ 峰, 但 $[M+Na]^+$ 容易受到流动相、样品基质的干扰使响应值不够稳定, 因此选择 $[M+H]^+$ 峰作为基峰。选择合适的碰撞能量对母离子进行碰撞, 从碎片离子中选择 2 个丰度较高碎片离子作为定量和定性离子。优化后的参

数见 2.3。空白样品(浸泡液为 4% 乙酸)色谱图以及空白样品(浸泡液为 4% 乙酸)中添加油酸酰胺标样(2 mg/L)的多反应监测(MRM)色谱图见图 3。

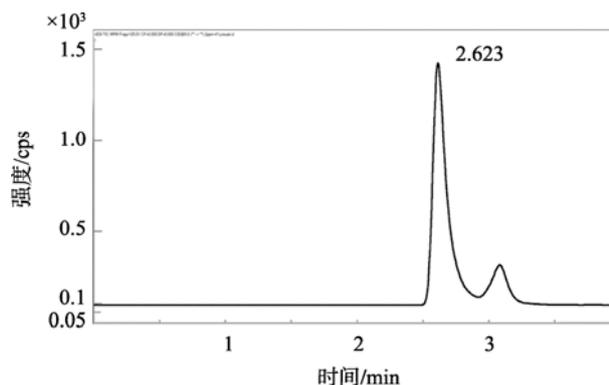
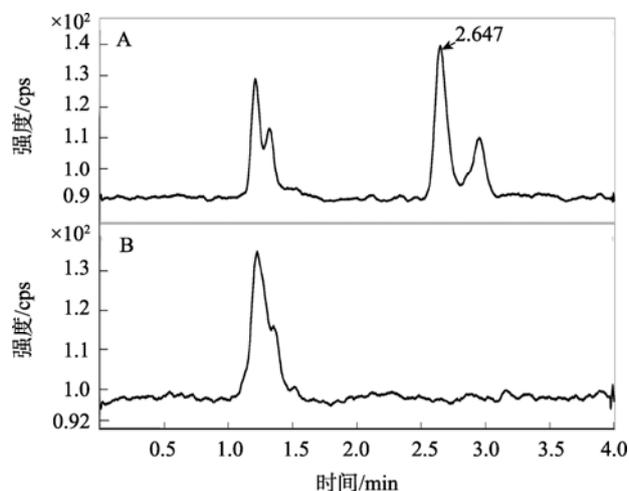


图2 采用甲醇-0.1% 乙酸等梯度洗脱时油酸酰胺的色谱图(2 mg/L)
Fig.2 Chromatogram of oleamide standard using methanol and 0.1% acetic acid as mobile phase (2 mg/L)



注: A 为空白样品加标(2 mg/L 油酸酰胺标样); B 为空白样品
图3 4% 乙酸浸泡液空白样品加标与不加标的 MRM 色谱图
Fig.3 Multiple reaction monitoring (MRM) chromatograms of 4% acetic acid blank sample (skipped or not)

3.3 线性关系、检出限以及定量限

将配制的 0.25、0.5、1、2、5 mg/L 标准工作液在优化后的色谱及质谱条件下进行测定及回归分析。在 0.25~

5 mg/L 的浓度范围内, 不同模拟液中的油酸酰胺的线性关系良好。分别以不同模拟物中的油酸酰胺的 3 倍信噪比 ($S/N=3$) 和 10 倍信噪比 ($S/N=10$) 确定其检出限和定量限, 结合所取样品体积计算得到不同模拟液中目标物的检出限和定量限(见表 2)。

3.4 回收率及精密度结果

实验采用聚碳酸酯(polyethyleneterephthalate, PET)水杯作为实验对象, 分别在经过 60 °C, 10 d 的 4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇、50%乙醇以及 95%乙醇迁移试验模拟液中添加 0.25、1 和 5 mg/L 的 3 个浓度标准溶液, 每个添加

量分别做 6 个平行, 进行回收率的实验。油酸酰胺在不同模拟物中的回收率为 90.3%~117.1% (见表 3)。

3.5 实际样品的检测

本实验选择市场上常见的聚碳酸酯(PET)饮料瓶, 聚乙烯(polyethylene, PE)瓶以及聚丙烯(polypropylene, PP)饭盒作为实验样品。并考察了不同材质在 40 °C 温度下贮藏 10 d 的条件下与 4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇、50%乙醇以及 95%乙醇 5 种不同模拟液接触后的油酸酰胺迁移量, 实验结果发现, 与不同材质样品接触的 5 种模拟物中均未检出油酸酰胺。

表 2 线性参数、检出限和定量限
Table 2 Linearity parameters, limits of detection and limits of quality

化合物	食品模拟物	线性范围/(mg/L)	回归方程	相关系数	检出限/(mg/L)	定量限/(mg/L)
油酸酰胺	4%乙酸	0.25~5	$Y=2.083X+165.7$	0.9994	0.001	0.004
	10%乙醇	0.25~5	$Y=2.232X+27.25$	0.9991	0.001	0.004
	20%乙醇	0.25~5	$Y=1.568X+10.73$	0.9990	0.001	0.005
	50%乙醇	0.25~5	$Y=0.3939X+7.752$	0.9998	0.001	0.003
	95%乙醇	0.25~5	$Y=0.3889X+2.539$	0.9999	0.002	0.005

表 3 5 种食品模拟物中油酸酰胺的加标回收率和相对标准偏差
($n=6$)

Table 3 Recoveries and relative standard deviations of oleamide in 5 kinds of food simulation liquid ($n=6$)

化合物	食品模拟物	添加含量/(mg/L)	回收率/%	相对标准偏差/%
油酸酰胺	4%乙酸	0.25	106.2	1.26
		1	98.83	2.10
		5	100.6	0.77
	10%乙醇	0.25	93.44	1.40
		1	101.2	1.28
		5	100.6	0.31
	20%乙醇	0.25	102.1	0.82
		1	90.29	0.88
		5	99.53	0.20
	50%乙醇	0.25	98.45	1.40
		1	110.5	0.88
		5	104.2	0.31
	95%乙醇	0.25	117.1	1.85
		1	106.7	1.40
		5	107.0	0.24

4 结论

本研究建立了超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry)检测食品接触材料中的油酸酰胺迁移量。该方法准确、灵敏, 在不同的模拟液中都具有良好的回收率(90.3%~117.1%)和精密度(0.20%~2.10%), 可以为定性、定量分析食品模拟物中油酸酰胺的迁移量提供准确、有效的检测方法。

参考文献

- [1] 陈志峰. 塑料食品包装材料中有毒有害化学残留物及分析方法[J]. 食品与机械, 2006, 22(2): 3-7.
Chen ZF. Test and analysis methods for chemical contaminants in plastic food packing materials [J]. Food Mach, 2006, 22(2): 3-7.
- [2] 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[S].
GB 9685-2016 National food safety standard-Uses of additives in food contact materials and their products [S].
- [3] 吴贵岚. 油酸酰胺在塑料中的应用[J]. 塑料助剂, 2000, 1(19): 22-24.
Wu GL. Application of oleic acid amide in plastics [J]. Plast Addit, 2000, 1(19): 22-24.
- [4] 郭长彬, 宋宏锐. 内源性睡眠诱导物质油酸酰胺的研究进展[J]. 中国药物化学杂志, 2000, 10(4): 300-304.
Guo CB, Song HR. The development of oleamide-an endogenous sleep-inducing lipid [J]. Chin J Med Chem, 2000, 10(4): 300-304.

- [5] Arafat ES, Trimble JW, Andersen RN, *et al.* Identification of fatty acid amides in human plasma [J]. *Lif Sci*, 1989, 45: 1679–1687.
- [6] Lin G, Zhu MM, Yang JY, *et al.* Differential proteomic analysis of the anti-depressive effects of oleamide in a rat chronic mild stress model of depression [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2015, (131): 77–86.
- [7] Fu J, Astarita G, Gaetani S, *et al.* Food intake regulates oleoylethanolamide formation and degradation in the proximal small intestine [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(2): 1518–1528.
- [8] Robinhiley C, Hoi PM. Oleamide: A Fatty acid amide signaling molecule in the cardiovascular system [J]. *Cardiovasc Drug Rev*, 2007, 25(1): 46–60.
- [9] 蔡翔宇, 江思华, 吴玉杰, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测功能食品中 6 种玛咖酰胺[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(7): 1628–1633.
Cai XY, Jiang SH, Wu YJ, *et al.* Simultaneous determination of 6 kinds of Maca amides in functional foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(7): 1628–1633.
- [10] 朱财延, 李炳辉, 罗成员, 等. 高效液相色谱-质谱法分析植物玛咖中的玛咖烯和玛咖酰胺[J]. *分析仪器*, 2014, (5): 44–49.
Zhu CY, Li BH, Luo CY, *et al.* Analysis of macaenes and macamides in maca plant by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Anal Instrum*, 2014, (5): 44–49.
- [11] 夏陈, 邓俊林, 张盈娇, 等. 高效液相色谱测定川产玛咖中 N-苄基-十六烷酰胺的含量[J]. *化学与生物工程*, 2017, 34(2): 68–70.
Xia C, Deng JL, Zhang YJ, *et al.* Determination of contents of N-benzyl-hexadecanamide in Sichuan maca by HPLC [J]. *Chem Bioeng*, 2017, 34(2): 68–70.
- [12] 吴春英, 白鹭, 谷风, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定地表水中的 18 种酰胺类除草剂[J]. *理化检测-化学分册*, 2016, 52(5): 602–606.
Wu CY, Bai L, Gu F, *et al.* Simultaneous determination of 18 amide herbicides in surface water by SPE-UPLC-MS/MS [J]. *Ptca Part B Chem Anal*, 2016, 52(5): 602–606.
- [13] 高大方, 张泽生. 新资源食品玛咖中功能成分的 UPLC-MS/MS 研究[J]. *安徽农业科学*, 2013, 41(2): 830–832.
Gao DF, Zhang ZS. Functional constituents identification in maca, a novel food by UPLC-MS/MS [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2013, 41(2): 830–832.
- [14] 杨军, 王艳菊, 白永文, 等. 关于同时检测五种不同玛咖酰胺含量方法的探讨[J]. *农业与技术*, 2018, 38(8): 25–26.
Yang J, Wang YJ, Bai YW, *et al.* Discussion on the method of simultaneous detection of 5 different maca amide content [J]. *Agric Technol*, 2018, 38(8): 25–26.
- [15] 陈蕾, 宋志超, 张崇威, 等. 动物源食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留检测超高效液相色谱-串联质谱法研究[J]. *中国兽药杂志*, 2015, 49(8): 28–34.
Chen Q, Song ZQ, Zhang CW, *et al.* Determination of amphenicols and metabolite residues in animal derived food by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Vet*, 2015, 49(8): 28–34.
- [16] 王兴宁. 气相色谱-串联质谱检测烟草中 10 种酰胺类除草剂残留[J]. *贵州师范大学学报(自然科学版)*, 2017, 35(5): 85–89.
Wang XN. Determination of 10 kinds of acetanilide herbicide in tobacco by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Guizhou Norm Univ (Nat Sci Ed)*, 2017, 35(5): 85–89.
- [17] 方宁, 王子剑, 赵劲松, 等. 气相色谱-质谱法测定食品接触材料润滑剂在脂类食品模拟物中迁移量[J]. *中国食品卫生杂志*, 2016, 28(3): 319–322.
Fang N, Wang ZJ, Zhao JS, *et al.* Determination of lubricant migration from food contact materials to the lipid food stimulant by chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2016, 28(3): 319–322.
- [18] 方宁, 巩俐彤, 李倩, 等. 气相色谱-质谱法测定食品接触材料中 4 种润滑剂的迁移量[J]. *中国食品卫生杂志*, 2014, 26(6): 562–565.
Fang N, Gong LT, Li Q, *et al.* Determination of 4 kinds of migration of lubricant in food contact materials by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2014, 26(6): 562–565.
- [19] Lv G, Wang LB, Liu J, *et al.* Method for determination of fatty acid amides in polyethylene packaging materials-Gas chromatography/mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, (1216): 8545–8548.
- [20] GB 5009.156-2016 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 [S].
GB 5009.156 National food safety standards-Food contact materials and products migration test pretreatment methods [S].

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



晏 嫣, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品包装材料及制品卫生安全预警。

E-mail: yshwqgy@sina.com