

- ion-trap mass spectrometer detector [J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 402(3):1373-1381.
- [21] Lambert K S. Determination of phthalates in milk and milk products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006(20):1135-1143.
- [22] Fromme H, Gruber L, Schlummer M, et al. Intake of phthalates and di (2-ethylhexyl) adipate: results of the integrated exposure assessment survey based on duplicate diet samples and biomonitoring data [J]. Environment International, 2007, 33(8):1012-1020.
- [23] 杨欣, 刘卿, 苗虹, 等. 国标法检测食品中邻苯二甲酸酯空白值的分析讨论[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(3):226-230.
- [24] 国家食品安全风险评估中心理化部. 第五次中国总膳食研究工作手册[R]. 北京: 国家食品安全风险评估中心, 2012, 10-11.
- [25] European Communities. Commission decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing council directive 96/23/EC (1996) concerning the performance of analytical methods and the interpretation of result [S]. Official Journal of the European Communities, 2002.

## 实验技术与方法

# 荧光分光光度法测定纸质食品包装材料中的荧光增白剂

蒋定国<sup>1,2,3</sup>, 陈立松<sup>2,4</sup>, 温小龙<sup>3</sup>, 傅武胜<sup>4</sup>

(1. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021; 2. 福州大学食品安全分析与检测教育部重点实验室, 福建 福州 350014; 3. 福建医科大学药学院, 福建 福州 350014; 4. 福建省疾病预防控制中心人兽共患病研究重点实验室, 福建 福州 350001)

**摘要:**目的 建立纸质食品包装材料中荧光增白剂(FWAs)快速筛选的荧光分光光度测定方法。方法 以 C. I. 220 为定量标准, 试样用重蒸无水乙醇-水(1:4, V/V)经三次超声提取, 提取液在激发波长为 350 nm 和发射波长为 430 nm 条件下用荧光分光光度仪测定。结果 C. I. 220 在 12.5 ~ 400 ng/ml 范围内呈良好的线性相关 ( $r=0.9997$ ), 3 个添加浓度水平(1.5、2.5 和 6.0  $\mu\text{g/g}$ )的平均回收率为 84.4% ~ 90.9%, 定量限为 1.2  $\mu\text{g/g}$ 。结论 该方法简便、灵敏和准确, 适合纸质食品包装材料中 FWAs 的快速筛选检测要求。

**关键词:** 荧光增白剂; 双三嗪氨基二苯乙烯; 荧光分光光度法; 纸质食品包装材料; 食品安全

**中图分类号:** O657.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-8456(2014)01-0050-05

## Analysis of fluorescent whitening agents in food packaging papers by fluoremetric method

JIANG Ding-guo, CHEN Li-song, WEN Xiao-long, FU Wu-sheng

(China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

**Abstract: Objective** To develop a fluoremetric method for rapid screening of fluorescent whitening agents (FWAs) in food packaging paper. **Methods** Samples were extracted by ethanol-water (1:4, V/V) for three times, and the extracts were detected by fluorescence spectrophotometer with the excitation wavelength at 350 nm and the emission wavelength at 430 nm. C. I. 220 was used as the standard for quantification. **Results** C. I. 220 had a good relativity ( $r=0.9997$ ) within the range of 12.5 – 400 ng/ml and the limit of quantification (LOQ) of this method was 1.2  $\mu\text{g/g}$ . Mean recoveries were 84.4% – 90.9% at three added levels (1.5, 2.5 and 6.0  $\mu\text{g/g}$ ). **Conclusion** This method was fast, simple, reliable and could be applied for screening of FWAs in food packaging papers.

**Key words:** Fluorescent whitening agents; bistriazinylaminostilbene; fluoremetric method; food packaging paper; food safety

荧光增白剂(FWAs)被广泛应用于纸质材料、纺织品和洗涤剂中,以提高产品的亮白效果。荧

光增白剂可分为二苯乙烯类、香豆素类、苯并恶唑类、萘酰亚胺类等,其中双三嗪氨基二苯乙烯类荧光增白剂(DSD-FWAs)的产量占各类荧光增白剂的80%以上,造纸工业基本使用该类产品<sup>[1]</sup>。DSD-FWAs具有潜在的毒性作用<sup>[2-3]</sup>,某些不法商家可能将含有重金属、油墨和DSD-FWAs等污染物的废旧纸张和纸板回收,对纸浆荧光增白后,用于生产食品包装材料。我国1989年就禁止在食

收稿日期:2013-11-08

基金项目:国家自然科学基金(81072306)

作者简介:蒋定国 男 副研究员 研究方向为食品化学检测与监测

E-mail:jiandingguo2000@sina.com

通讯作者:傅武胜 男 主任技师 研究方向为食品化学污染物

E-mail:fwsfqm@126.com

品包装用原纸生产中添加荧光增白剂<sup>[4]</sup>,并于2008年进一步规定食品包装纸中仅允许添加DSD-FWAs中的C. I. 220,其最大使用量为0.30%,禁止其他荧光增白剂的添加<sup>[5]</sup>。美国食品药品监督管理局(FDA)也规定与食品接触的纸质包装材料中仅允许添加C. I. 220,并严格规定其限量为0.011%<sup>[6]</sup>。近年来我国纸质包装材料的荧光增白剂问题屡遭质疑,某些品牌的爆米花桶、方便面纸碗和奶茶杯等先后被曝光含荧光增白剂,从而给食品包装材料的安全使用带来较大隐患。

国内外关于荧光增白剂的检测方法主要有紫外灯照射观测法<sup>[7]</sup>、荧光分光光度法<sup>[8-11]</sup>、高效液相色谱法(HPLC)<sup>[12-14]</sup>和高效液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)<sup>[13,15]</sup>。我国食品包装材料国家标准方法采用紫外灯照射观测法<sup>[6]</sup>,该目测方法具有较大的局限性,不能准确定量。HPLC法和LC-MS/MS法可以具体测定单个的FWA,是今后食品包装材料荧光增白剂检测的发展方向,但由于荧光增白剂存在许多结构近似的化合物,其分子量较大,又存在多个磺酸根,使HPLC法分离难度较大,且现阶段荧光增白剂标准品供应较少。荧光分光光度法具有仪器设备便宜的优点,其检测灵敏度高,检出限能达到 $4.0 \mu\text{g/g}$ <sup>[10]</sup>和 $9.59 \text{ ng/ml}$ <sup>[11]</sup>,可用于测定荧光增白剂的总量。为此,本研究建立了一种快速筛查纸质食品包装材料中荧光增白剂的荧光分光光度方法,并将该方法应用于实际样品的检测。

## 1 材料与方 法

### 1.1 仪器与试剂

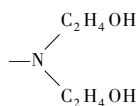
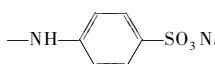
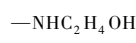
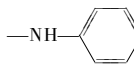
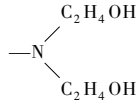
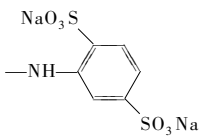
LS-50B 荧光分光光度仪、G-560E 型漩涡混合器、KQ-500DE 型数控超声波清洗器、Microfuge 型高速离心机、CP225D 电子天平(准确至 $0.01 \text{ mg}$ )、YP202 电子天平(准确至 $0.01 \text{ g}$ )。

乙醇(分析纯),经过重蒸后使用。乙腈(色谱纯),试验用水均使用 Millipore 净水器过滤制备。

DSD-FWAs 的 C. I. 85、C. I. 220 和 C. I. 264 对照品(纯度 $>95\%$ ,美国 International Laboratory),批号分别为 249610、389685 和 349105,分别为二磺酸盐、四磺酸盐和六磺酸盐,具体结构式如表 1 所示。

分别准确称取 3 种 DSD-FWAs 对照品各  $1.0 \text{ mg}$ (精确至 $0.01 \text{ mg}$ ),以乙腈-水(1:1, V/V)配成  $100 \mu\text{g/ml}$  的标准储备液,于  $0 \sim 4 \text{ }^\circ\text{C}$  避光保存。试验中再根据需 要以乙腈-水(1:1, V/V)配制标准中间液与标准曲线。

表 1 DSD-FWAs 的基本结构

分析物	R <sub>1</sub> 取代基	R <sub>2</sub> 取代基
C. I. 220		
C. I. 85		
C. I. 264		

注: DSD-FWAs 的结构通式见图 1

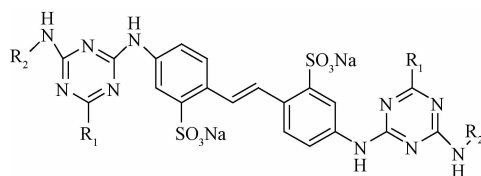


图 1 DSD-FWAs 的结构通式

Figure 1 The structural formula of DSD-FWAs

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试验用溶剂与器材的荧光本底值检查

试验用水、乙腈、乙醇等溶剂,直接在荧光分光光度仪上测定其荧光值。

向试验用容器(离心管、三角瓶、量筒等)中倒入  $5 \text{ ml}$  乙醇,振摇  $30 \text{ s}$ ,测定提取液的荧光值;将试验用取液耗材(吸液枪头、吸液管等)插入到离心管中的  $5 \text{ ml}$  乙醇液面下,模拟取液环境,取液后再将溶剂排回离心管里,连续重复 3 次,测定离心管中乙醇的荧光值;用  $10 \text{ ml}$  乙醇淋洗试验用接触手套(乳胶手套、薄膜手套),测定淋洗液的荧光值。

#### 1.2.2 样品前处理方法

将约  $10 \text{ g}$  的纸质食品包装材料剪成  $<1 \text{ cm}^2$  碎末状纸屑。称取约  $0.5 \text{ g}$  纸屑,放入  $150 \text{ ml}$  磨口三角瓶中,加入  $25 \text{ ml}$  乙醇-水(1:4, V/V),将三角瓶放入超声清洗器中,于  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  下超声  $10 \text{ min}$ 。将提取液转移至  $50 \text{ ml}$  容量瓶中,再加入  $10 \text{ ml}$  乙醇-水(1:4, V/V),重复上述提取步骤 2 次。待提取液冷却后,合并 3 次提取液,并用乙醇-水(1:4, V/V)定容至  $50 \text{ ml}$ ,涡旋  $30 \text{ s}$  使提取液充分混匀。吸取  $5 \text{ ml}$  提取液, $5000 \text{ r/min}$  离心  $2 \text{ min}$ ,取上清液供检测。

#### 1.2.3 仪器条件

荧光分光光度仪的激发波长  $350 \text{ nm}$ ,发射波长  $430 \text{ nm}$ ,狭缝宽度  $5 \text{ nm}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 试验溶剂与实验器材的荧光本底考察

由于荧光增白剂的广泛应用及易受其他荧光成分污染,试验用溶剂<sup>[16]</sup>与器材可能存在不同程度的荧光本底。为了提高方法的灵敏度,需要在试验前进行试验用溶剂与器材的荧光本底检查,为正确选择、净化溶剂和器材提供参考,以便尽可能降低试验中的荧光本底。

研究表明,部分溶剂和器材带有较强的荧光本底。其中,色谱纯乙腈荧光本底值低,可以作为配制荧光增白剂标准品的溶剂,而分析纯乙醇荧光本底值较高,需经过重蒸后才能使用;Corning 聚丙烯离心管和薄膜手套的荧光本底值相对较低,玻璃器皿和取液耗材需要经过净化处理后才能使用。由于调查发现色

谱纯试剂或重蒸试剂的荧光值范围在 0.02 ~ 0.108 之间,如按 3 倍信噪比计算,可以认为荧光值 < 0.4 的试剂或器材表面浸泡液的荧光干扰很低,实际检测也不会影响样品检测结果。否则,需要对其进行净化处理或弃用。具体检查结果及处理方法如表 2 和 3 所示。

表 2 相关溶剂的荧光本底值及净化处理方法

Table 2 The background fluorescent values and the purification methods of some solvents

溶剂	级别	荧光值	处理方法
自来水	—	9.48	使用 Millipore 过滤
Millipore 过滤水	18.2 MΩ·cm	0.108	可以使用
乙腈	分析纯	9.25	不能使用
乙腈	色谱纯	0.021	可以使用
乙醇	分析纯	20.7	经过重蒸后使用
重蒸后乙醇	—	0.102	可以使用

注:—表示无级别

表 3 相关器皿与耗材的荧光本底值及处理方法

Table 3 The background fluorescent values and the purification methods of some containers and consumables

器材	规格/ml	荧光值	处理方法	处理后荧光值
Corning 聚丙烯离心管	15、50	0.102 ~ 0.134	直接使用	—
某品牌聚丙烯离心管	15、50	2.72	不能使用	—
磨口三角瓶	250	2.71	用纯水和重蒸乙醇分别冲洗 3 次。	0.205
玻璃量筒	25、50、100	0.642 ~ 0.793	用纯水和重蒸乙醇分别冲洗 3 次	0.089 ~ 0.103
移液枪枪头	0.1、1.0	1.530 ~ 2.450	用重蒸乙醇浸泡,超声 5min,取出枪头晾干使用。	0.189 ~ 0.358
塑料吸管	5.0	0.042	直接使用	—
乳胶手套	—	9.150	不能使用	—
薄膜手套	—	0.106	直接使用	—

注:—表示无容积规格或未处理

### 2.2 激发波长与发射波长的选择

分别配制浓度为 100 ng/ml 的 C. I. 85、C. I. 220 和 C. I. 264 标准溶液。先固定发射波长,扫描其激发光谱,再固定扫描出的最大激发波长,扫描发射光谱。如图 2 所示,三种 DSD-FWAs 的最大激发波长均在 350 nm 附近,最大发射波长均在 415 ~ 440 nm 之间,荧光光谱特征基本一致,该结果与过去报道的文献相符<sup>[10-11]</sup>。因此选择常用的 C. I. 220 作为测定荧光增白剂总量的定量标准,定量测定的最大激发波长与发射波长分别为 350 和 430 nm。

### 2.3 方法学验证

#### 2.3.1 线性关系和定量限

分别配制浓度为 5.00、12.5、25.0、50.0、100、200 和 400 ng/ml 的 C. I. 220 标准系列溶液并测定其荧光值( $y$ ),考察荧光值( $y$ )和标准溶液浓度( $x$ )的相关性。结果表明,在 12.5 ~ 400 ng/ml 浓度范围内,呈良好的线性关系( $r = 0.9997$ ),线性方程为  $y = 3.2584x + 1.699$ ,并以线性范围的最低点计算方

法定量限,结合称样量与定容体积,求得本方法的定量限(LOQ)为 1.2 μg/g,比相关文献报道(检出限分别为 4.0 μg/g 和 9.59 ng/ml)更低<sup>[10-11]</sup>,说明本方法灵敏度较高。

#### 2.3.2 准确度与精密度

选取方便面纸碗空白样品进行加标回收试验,加标水平分别为 1.5、2.5 和 6.0 μg/g,结果显示 C. I. 220 的平均回收率为 84.4% ~ 90.9%,RSD 为 2.10% ~ 5.27%,说明方法准确度和精密度满足测定要求。具体结果见表 4。

### 2.4 实际样品分析

利用本方法调查了市售方便面纸碗、零食包装盒和饮料盒等 36 份样品中荧光增白剂的含量,发现在 3 份方便面纸碗、3 份熟食垫纸、4 份零食包装盒及 2 份 500 ml 饮料纸盒样品中检出荧光增白剂;其中,某方便面纸碗、路边零食包装纸及三明治垫纸 3 份样品中测出荧光增白剂含量高于 0.011%,超出了美国 FDA 对于 C. I. 220 的允许限量值<sup>[6]</sup>。

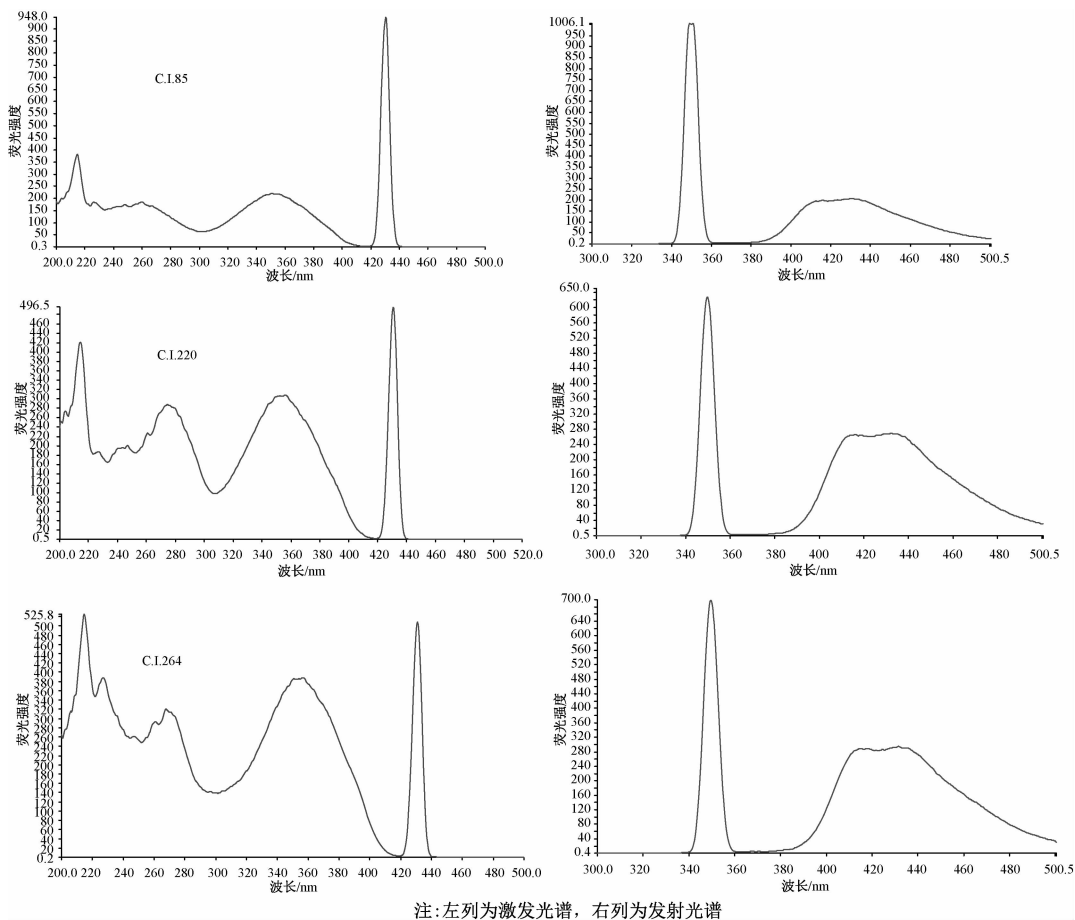


图2 三种 DSD-FWAs 的激发光谱和发射光谱比较

Figure 2 Comparison of the excitation spectrums and emission spectrums for three DSD-FWAs

表4 方便面纸碗中 C. I. 220 的加标回收率和精密度结果 (n = 6)

Table 4 Recoveries and RSD of C. I. 220 spiked in instant noodle box

加标水平 / (μg/g)	荧光强度	实测含量 / (μg/g)	回收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
6.0	185	5.63	93.8	90.9	2.10
	174	5.29	88.1		
	177	5.38	89.7		
	179	5.44	90.7		
	181	5.50	91.7		
	180	5.47	91.2		
2.5	76.9	2.31	92.3	88.2	3.95
	73.2	2.19	87.8		
	77.2	2.32	92.7		
	70.6	2.11	84.6		
	71.9	2.15	86.2		
1.5	41.5	1.22	81.4	84.4	5.27
	42.2	1.24	82.9		
	44.1	1.30	86.8		
	46.5	1.37	91.7		
	43.1	1.27	84.7		
	40.3	1.18	79.0		

值进行了研究和排查,为降低方法的荧光本底水平提供了参考,建立的纸质食品包装材料中荧光增白剂总量的荧光分光光度检测方法简便快速,灵敏度高,适用于纸质食品包装材料中荧光增白剂总量的初筛测定。

参考文献

[ 1 ] 张红杰,胡惠仁,李群,等. 造纸用荧光增白剂的结构特点及其影响因素[J]. 天津造纸,2007,29(3):12-15.

[ 2 ] WANG B,SHANG J,LIU X, et al. Enhanced effect of fluorescent whitening agent on peroral infection for recombinant baculovirus in the host Bombyx mori L[J]. Curr Microbiol,2007,54(1):5-8.

[ 3 ] Jung H,Seok S H,HAN J H, et al. Effect of fluorescent whitening agent on the transcription of cell damage-related genes in zebrafish embryos[J]. J Appl Toxicol,2012,32(9):654-661.

[ 4 ] 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.

[ 5 ] 中华人民共和国卫生部. GB 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.

[ 6 ] FDA. Inventory of effective food contact substance (FCS) notifications[EB/OL]. [2013-08-06]. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnDetailNavigation.cfm? rpt = fcsListing&id = 889>.

[ 7 ] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.78—2003 食品包装用原纸卫生标准分析方法[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

3 小结

本文对与试验相关的溶剂和器皿的荧光本底

- [ 8 ] CAO Y, Griffith J F, Weisberg S B, et al. Evaluation of optical brightener photodecay characteristics for detection of human fecal contamination[J]. *Water Res*, 2009, 43(8):2273-2279.
- [ 9 ] Lee J Y, Youn H J, Lee H L. Fundamental study for quantitative analysis of the fluorescent whitening agent (FWA) content of paper and process water[J]. *Bio Resources*, 2011, 7(1):315-326.
- [ 10 ] 罗冠中, 刘祥, 汪晓冬, 等. 荧光分光光度法测定生活用纸制品中的荧光增白剂[J]. *中国测试*, 2009, 35(4):68-71.
- [ 11 ] 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, 22:1210-1213.
- [ 12 ] Delos Santos M, Nerin C, Domeno C, et al. The analysis of fluorescent whitening agents using reversed-phase HPLC and mass spectrometry [J]. *Lc Gc N Am*, 2004, 22:550-561.
- [ 13 ] CHEN H C, WANG S P, DING W H. Determination of fluorescent whitening agents in environmental waters by solid-phase extraction and ion pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1102(1):135-142.
- [ 14 ] SHU W C, DING W H. Determination of fluorescent whitening agents in laundry detergents and surface waters by solid-phase extraction and ion-pair high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1088(1):218-223.
- [ 15 ] CHEN H C, DING W H. Hot-water and solid-phase extraction of fluorescent whitening agents in paper materials and infant clothes followed by unequivocal determination with ion-pair chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1108(2):202-207.
- [ 16 ] 鲁敏, 董宜玲. 乙酰丙酮分光光度法测定水中甲醇时影响空白值的因素 [J]. *环境监测管理与技术*, 2007, 19(4):56-57.

## 实验技术与方法

### 浊点萃取-石墨炉原子吸收光谱法测定铬的形态

王晓波<sup>1</sup>, 李建国<sup>2</sup>, 赵春香<sup>2</sup>, 常凤启<sup>2</sup>, 崔韵诗<sup>1</sup>, 何凯抒<sup>1</sup>

(1. 广东药学院公共卫生学院营养与食品卫生系 广东省分子流行病学重点实验室, 广东 广州 510310;

2. 河北省疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050019)

**摘要:**目的 采用浊点萃取-石墨炉原子吸收光谱法(CPE-GFAAS)测定铬的形态。方法 以 GFAAS 为检测手段, TritonX-100 为表面活性剂, 8-羟基喹啉(8-HQ)为络合剂, 考察 pH 和 Triton X-100 的用量、温度和时间等对浊点萃取 Cr(Ⅲ)的影响。通过测定总铬和 Cr(Ⅲ), 计算出 Cr(VI)的含量。结果 最佳浊点萃取条件为 pH=9, 1.0 ml 3% Triton X-100, 水浴 95 ℃, 20 min。方法检出限为 0.2 μg/L, 精密度 RSD 为 4.1%, 加标回收率在 88%~98% 之间。结论 本方法污染小、简便快速、准确灵敏、精密度高。

**关键词:** 浊点萃取; 铬; 形态分析; 石墨炉原子吸收光谱法; 重金属

中图分类号: R155.3; O614.61; O65 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2014)01-0054-04

#### Cloud point extraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for chromium speciation determination

WANG Xiao-bo, LI Jian-guo, ZHAO Chun-xiang, CHANG Feng-qi, CUI Yun-shi, HE Kai-shu  
(Department of nutrition and food hygiene, School of Public Health, Guang Dong Pharmacy University  
Guangdong Key Laboratory of Molecular Epidemiology, Guangdong Guangzhou 510310, China)

**Abstract: Objective** To develop a method for the separation and determination of chromium by the cloud point extraction-graphite furnace atomic absorption spectrometry (CPE-GFAAS). **Methods** Using Triton X-100 as surfactant and 8-hydroxyquinoline (8-HQ) as complexing agent, the cloud point extraction rate of the trivalent chromium with graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) was optimized by pH, Triton X-100 dosage, temperature, time and other major factors. The content of Cr(VI) was determined by total chromium and Cr(Ⅲ). **Results** The optimum cloud point extraction condition was pH=9, 1.0 ml 3% Triton X-100, equilibrium temperature 95 ℃, equilibrium time 20 min. Under this optimum condition, the limit of detection was 0.2 μg/L and relative RSD was 4.1%. The spiked recoveries were above 88% - 98%. **Conclusion** This method has the advantages of low pollution, convenience, accuracy, high sensitivity and high precision.

收稿日期: 2013-10-18

基金项目: 河北省科技支撑计划重点项目(项目编号: 13277709D)

作者简介: 王晓波 女 教授 研究方向为营养与食品安全监测 E-mail: wangxb200869@126.com