

三重四极杆液质联用法 - 食品接触材料及制品中芳香族伯胺迁移量的测定

LCMSMS-676

摘要： 本文参考食品安全国家标准 GB 31604.52-2021《食品接触材料及制品中芳香族伯胺迁移量的测定》，使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪测定在各模拟介质下 29 种芳香族伯胺迁移量的液质方法，15 min 内完成 29 种芳香族伯胺的分析。该方法采用外标法定量，线性关系好，相关系数均在 0.997 以上。仪器分析精密度高，各化合物保留时间和峰面积的相对标准偏差均小于 0.37% 和 5.32%，加标回收率在 78.8.0~118.0% 之间。该方法具有灵敏度高、重复性好、准确度高的特点，可用于食品接触材料及制品中芳香族伯胺迁移量的测定。

关键词： 芳香族伯胺 LCMS-8050 食品接触材料及制品

芳香族伯胺是一类毒性比甲醛更强的致癌物质，无色无味，其固体和蒸汽能通过皮肤及其他途径迅速进入体内。芳香族伯胺通过呼吸道、胃肠道和皮肤进入人体，经过一系列生物化学反应使人体细胞的 DNA 发生结构与功能的变化，导致人致病甚至致癌。除了突变性和致癌性之外，芳香胺还有其他生物毒性，例如 4-氨基联苯会抑制许多肠道细菌生长，该作用会影响肠道菌群的平衡。

目前国内外对芳香族伯胺的研究主要集中在纺织品、塑料产品、水性食品模拟物、电器产品塑料部件

等，但在以上材料中的很大部分被用在食品接触材料及制品上，测试芳香族伯胺在其中的迁移量尤为重要，欧盟早在 2007 年 3 月发布 2007/19/EC 指令中，将芳香族伯胺迁移限量定为 0.01 mg/kg。

本文参照最新国标 GB 31604.52-2021《食品接触材料及制品中芳香族伯胺迁移量的测定》，按照食品模拟迁移测试条件的相关规定（GB 31406.1），以 4% 乙酸溶液、乙醇溶液等作为食品模拟物来替代不同类型的食品，建立食品接触材料及制品中 29 种芳香族伯胺迁移量的测定方法，供食品相关行业人员参考使用。

■ 实验部分

1.1 仪器

使用超高效液相色谱仪 LC-40 X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统，配置为：

系统控制器：CBM-40A 脱气机：DGU-40A

输液泵：LC-40B X3 自动进样器：SIL-40C X3

柱温箱：CTO-40AC 色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.98

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18-AQ 100 mm. L×3.0 mm I.D., 3.0 μm

（岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 227-30766-04）

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水，B 相 - 乙腈

流速：0.3 mL/min 进样体积：4 μL

柱温：40 °C 进样模式：同时注入

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始比例为 6%，梯度程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.5	Pumps	Pump B Conc.	6
4.0	Pumps	Pump B Conc.	40
7.0	Pumps	Pump B Conc.	60
9.0	Pumps	Pump B Conc.	95
12.0	Pumps	Pump B Conc.	95
12.2	Pumps	Pump B Conc.	6
15.0	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI (+4 mm)

加热气: 空气 10.0 L/min

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10.0 L/min

碰撞气: 氩气

接口温度: 350°C

D L 温度: 290°C

加热模块温度: 400°C

接口电压: 0.5 kV

扫描模式: MRM (表 2)

表 2 MRM 参数

序号	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	对苯二胺	106-50-3	109.05	65.0*	-11	-24	-27
				92.1	-10	-18	-10
2	间苯二胺	108-45-2	109.05	65.0*	-11	-24	-27
				92.1	-10	-18	-10
3	2,4- 二氨基苯甲醚	615-05-4	139.1	124.1*	-16	-20	-20
				108.1	-16	-20	-11
4	2,4- 二氨基甲苯	95-80-7	123.1	77.1*	-14	-27	-14
				106.1	-13	-21	-11
5	苯胺	63-53-3	94.1	77.1*	-11	-23	-14
				51.0	-11	-32	-21
6	4,4'- 二氨基二苯醚	101-80-4	201.2	108.1*	-10	-22	-11
				80.1	-10	-33	-16
7	联苯胺	92-87-5	185.1	168.1*	-10	-21	-17
				167.1	-10	-30	-17
8	4,4'- 二氨基二苯甲烷	101-77-9	199.1	106.1*	-10	-17	-21
				77.1	-10	-45	-13
9	邻甲氧基苯胺	90-04-0	124.05	109.1*	-14	-21	-19
				92.1	-12	-20	-20
10	邻甲苯胺	95-53-4	108.05	91.1*	-12	-23	-16
				93.1	-11	-18	-10
11	3,3'- 二甲基 -4,4'- 二氨基二苯甲烷	838-88-0	227.1	120.1*	-11	-25	-12
				178.0	-10	-26	-18
12	2,4- 二甲基苯胺	95-68-1	122.1	107.1*	-14	-21	-19
				105.1	-14	-21	-11

13	2,4'- 二氨基二苯甲烷	1208-52-2	199.1	106.1*	-10	-17	-21
				77.1	-10	-45	-13
14	3,3'- 二甲氧基联苯胺	119-90-4	245.15	230.1*	-12	-20	-24
				213.1	-12	-19	-23
15	3,3'- 二甲基联苯胺	119-93-7	213.15	180.1*	-11	-36	-19
				196.1	-10	-20	-20
16	3- 氨基对甲苯甲醚	120-71-8	138.1	123.1*	-16	-22	-21
				106.1	-16	-25	-11
17	2,4,5- 三甲基苯胺	137-17-7	136.1	121.1*	-16	-22	-21
				119.2	-15	-22	-26
18	4,4'- 二氨基二苯硫醚	139-65-1	217.1	124.0*	-11	-22	-22
				200.0	-11	-19	-21
19	对氯苯胺	106-47-8	128.1	93.1*	-16	-21	-19
				111.0	-15	-25	-19
20	2- 萘胺	91-59-8	144.05	127.1*	-16	-26	-23
				117.2	-17	-22	-12
21	2,6- 二甲基苯胺	87-62-7	122.1	107.1*	-14	-21	-19
				105.1	-14	-21	-11
22	2,2'- 二氨基二苯甲烷	6582-52-1	199.1	106.1*	-10	-16	-11
				77.1	-10	-47	-13
23	4- 氨基联苯	92-67-1	170.1	152.1*	-10	-32	-27
				153.1	-20	-23	-16
24	4- 氯邻甲苯胺	95-69-2	142.05	107.1*	-17	-21	-20
				125.1	-17	-25	-13
25	2- 氨基 -4- 硝基甲苯	99-55-8	153.05	107.1*	-18	-18	-21
				90.1	-18	-26	-19
26	3,3'- 二氯联苯胺	91-94-1	253	182.1*	-12	-27	-19
				217.1	-12	-21	-23
27	对氨基偶氮苯	60-09-3	198.1	77.1*	-11	-36	-30
				93.1	-10	-25	-10
28	4,4'- 次甲基 - 双 - (2- 氯苯胺)	101-14-4	267	140.1*	-13	-27	-29
				195.1	-13	-31	-20
29	邻氨基偶氮甲苯	97-56-3	226.1	91.1*	-12	-33	-20
				121.1	-11	-23	-21

* 表示定量离子

1.3 标准溶液配制

1.3.1 储备溶液 (1 mg/mL)：直接购买，甲醇溶剂。

1.3.2 中间溶液 A (1 mg/L, 甲醇)：吸取储备溶液 10 μ L 于 10 mL 棕色容量瓶中，甲醇定容，于 4 $^{\circ}$ C 中避光密闭保存 3 个月。

1.3.3 中间溶液 B (1 mg/L, 异辛烷)：吸取标准储备溶液 10 μ L 于 10 mL 棕色容量瓶中，用异辛烷定容，于 4 $^{\circ}$ C 中避光密闭保存 3 个月。

1.3.4 标准工作溶液配制

1.3.4.1 其他食品模拟物、化学替代溶剂的标准工作溶液

吸取标准中间溶液 A (1.3.2)，用 10% 乙醇溶剂稀释，得到浓度分别为 1、2、5、10、20、50 和 100 ng/mL 标准工作溶液。采用同样方式，分别用 4% 乙酸、20% 乙醇、50% 乙醇和 95% 乙醇配制各系列同样浓度的芳香族伯胺标准工作溶液。

1.3.4.2 异辛烷标准工作液

吸取标准中间溶液 B (1.3.3)，用异辛烷稀释，定容 5 mL，得到浓度分别为 1、2、5、10、20、50 和 100 ng/mL 的溶液。移取 2 mL 各浓度异辛烷溶液于试管中，加入 2 mL 甲醇 - 水提取液 (体积比 1:1)，振荡 1 min，静置分层后取下层水溶液，过滤后供测定用。

1.4 样品前处理

1.4.1 本次标准验证的食品模拟试验采用 4% 乙酸、10% 乙醇、20% 乙醇、50% 乙醇、化学替代溶剂即 95% 乙醇和异辛烷。

1.4.2 迁移试验

迁移试验的条件选择及操作步骤则按照 GB 31406.1-2015 和 GB 5009.15-2016 中的规定进行，获得迁移实验后的模拟物溶液。

1.4.3 模拟物试液制备

1.4.3.1 水性、酸性、酒精类食品模拟物

移取迁移试验后的浸泡溶液 1~2 mL，过滤后测定。

1.4.3.2 异辛烷试液

移取 2 mL 迁移实验后得到的异辛烷试液至试管中，加入 2 mL 甲醇 - 水提取液 (体积比 1:1)，振荡 1 min，静置分层后取下层水溶液，过滤后供测定用。

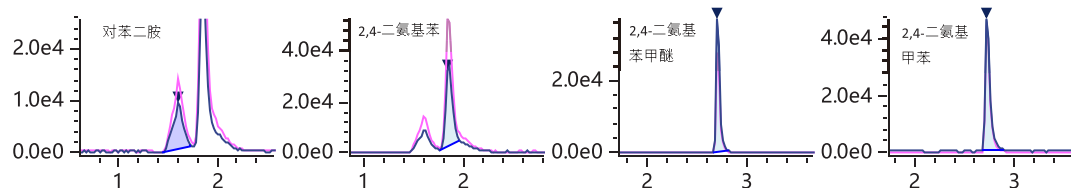
1.4.3.3 空白试液制备

未与食品接触材料及制品接触的食品模拟物和化学替代溶剂按 1.3.4 处理即得空白试液。

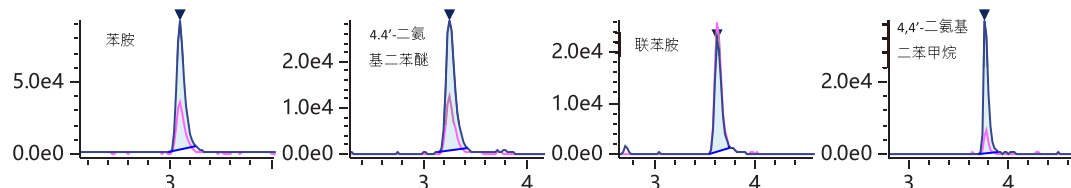
■ 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

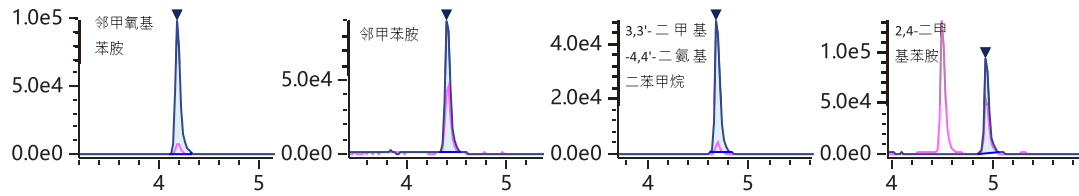
Q 109.05>65.00 (+) 3.54e4 Q 109.05>65.00 (+) 3.46e4 Q 139.10>124.10 (... 3.74e4 Q 123.10>77.10 (+) 4.71e4



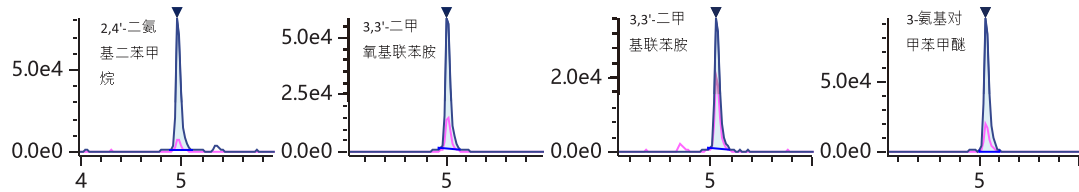
Q 94.10>77.10 (+) 9.32e4 Q 201.20>108.10 (... 2.90e4 Q 185.10>168.10 (... 2.25e4 Q 199.10>106.10 (... 3.71e4



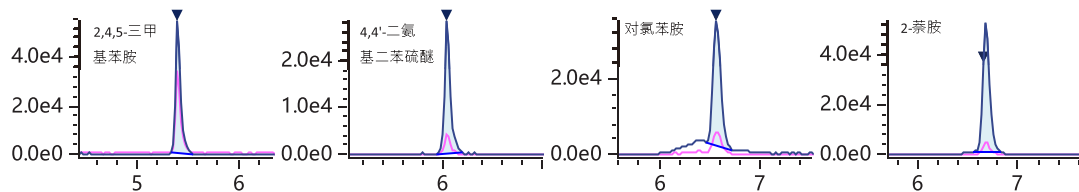
Q 124.05>109.10 (... 9.92e4 Q 108.05>91.10 (+) 9.06e4 Q 227.10>120.10 (... 4.84e4 Q 122.10>107.10 (... 9.39e4



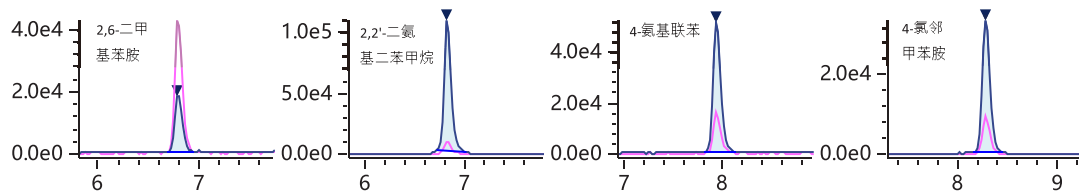
Q 199.10>106.10 (... 8.17e4 Q 245.15>230.10 (... 5.86e4 Q 213.15>180.10 (... 3.62e4 Q 138.10>123.10 (... 9.47e4



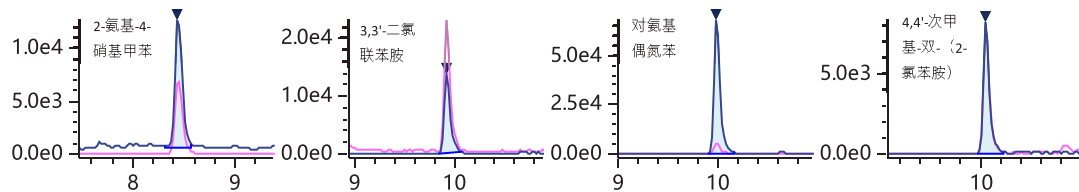
Q 136.10>121.10 (... 5.50e4 Q 217.10>124.00 (... 2.85e4 Q 128.10>93.10 (+) 3.53e4 Q 144.05>127.10 (... 5.32e4



Q 122.10>107.10 (... 1.92e4 Q 199.10>106.10 (... 1.10e5 Q 170.10>152.10 (... 5.26e4 Q 142.05>107.10 (... 3.38e4



Q 153.05>107.10 (... 1.27e4 Q 253.00>182.10 (... 1.40e4 Q 198.10>77.10 (+) 6.79e4 Q 267.00>140.10 (... 8.33e3



Q 226.10>91.10 (+) 6.17e4

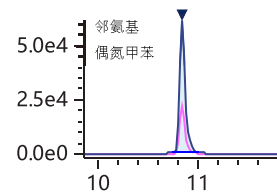


图 1 29 种芳香族伯胺标准品 MRM 色谱图 (1 ng/mL, 95% 乙醇)

2.2 线性关系

按照以上方法，分别在 6 种食品模拟物介质下，配制浓度为 1、2、5、10、20、50 和 100 ng/mL 标准工作溶液，按 1.2 条件测试，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，建立外标法校准曲线。限于篇幅，在此展示其中一种模拟物（95% 乙醇）的线性结果，在线性范围内，29 种芳香族伯胺化合物在各模拟物下的线性关系良好，相关系数 $r \geq 0.997$ ，线性回读准确度在 90.0~108.0% 之间，仪器检出限（ASTM，S/N=3）小于 0.22 ng/mL，详细结果见表 3。

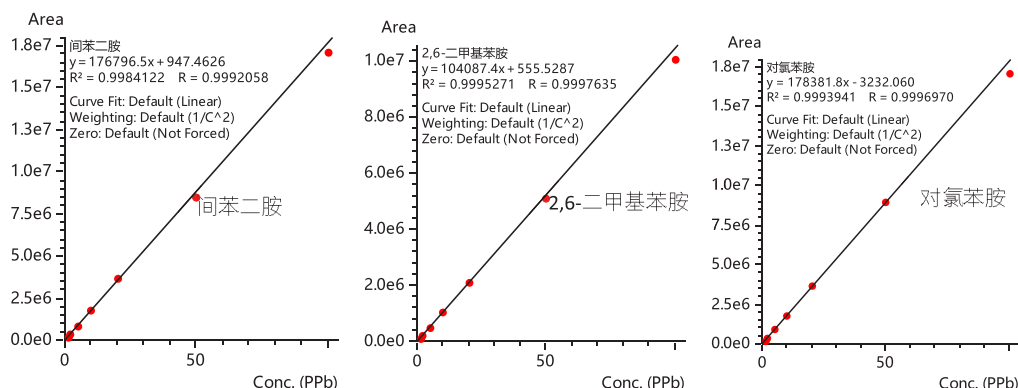


图 2 部分芳香族伯胺校准曲线图（95% 乙醇）

表 3 29 种芳香族伯胺线性关系（95% 乙醇，权重 $1/c^2$ ）

序号	化合物名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 %	检出限 (ng/mL)
1	对苯二胺	$Y = (24888.2)X + (-6001.64)$	1~100	0.9985	93.8~107.3	0.12
2	间苯二胺	$Y = (176796)X + (947.463)$	1~100	0.9992	96.3~105.6	0.08
3	2,4-二氨基苯甲醚	$Y = (27623.4)X + (5728.85)$	1~100	0.9991	92.3~103.4	0.05
4	2,3-二氨基甲苯	$Y = (160571)X + (15523.5)$	1~100	0.9988	92.8~105.4	0.04
5	苯胺	$Y = (494177)X + (23084.2)$	1~100	0.9997	97.0~102.3	0.04
6	4,4'-二氨基二苯醚	$Y = (193521)X + (15756.5)$	1~100	0.9989	95.3~105.4	0.08
7	联苯胺	$Y = (110932)X + (-959.716)$	1~100	0.9988	93.6~105.0	0.10
8	4,4'-二氨基二苯甲烷	$Y = (116509)X + (6052.44)$	1~100	0.9994	97.2~105.5	0.09
9	邻甲氧基苯胺	$Y = (359488)X + (16055.3)$	1~100	0.9991	93.5~104.6	0.05
10	邻甲苯胺	$Y = (324568)X + (29858.8)$	1~100	0.9995	96.0~103.0	0.05
11	3,3'-二甲基-4,4'-二氨基二苯甲烷	$Y = (166779)X + (1273.42)$	1~100	0.9992	96.2~104.6	0.08
12	2,4-二甲基苯胺	$Y = (295601)X + (29850.8)$	1~100	0.9977	90.8~105.7	0.04
13	2,4-二氨基二苯甲烷	$Y = (256521)X + (11456.4)$	1~100	0.9978	91.1~105.7	0.08
14	3,3'-二甲氧基联苯胺	$Y = (83383.7)X + (-68647.2)$	1~100	0.9973	92.4~108.0	0.18
15	3,3'-二甲基联苯胺	$Y = (118818)X + (-13304.3)$	1~100	0.9980	90.8~106.7	0.09
16	3-氨基对甲苯甲醚	$Y = (341586)X + (15444.9)$	1~100	0.9995	96.7~102.1	0.05
17	2,4,5-三甲基苯胺	$Y = (193470)X + (10527.7)$	1~100	0.9995	95.5~102.6	0.07
18	4,4'-二氨基二苯硫醚	$Y = (108651)X + (-6655.37)$	1~100	0.9993	95.6~105.0	0.18
19	对氯苯胺	$Y = (178382)X + (-3232.06)$	1~100	0.9997	96.0~102.5	0.13
20	2-萘胺	$Y = (258031)X + (-2051.03)$	1~100	0.9996	97.5~103.9	0.08
21	2,6-二甲基苯胺	$Y = (104087)X + (555.529)$	1~100	0.9997	96.8~101.7	0.21
22	2,2'-二氨基二苯甲烷	$Y = (500859)X + (14996.3)$	1~100	0.9998	97.4~102.3	0.04

23	4-氨基联苯	$Y = (269579)X + (3744.43)$	1~100	0.9999	90.0~101.0	0.09
24	4-氯邻甲苯胺	$Y = (194075)X + (8316.35)$	1~100	0.9999	98.8~101.5	0.10
25	2-氨基-4-硝基甲苯	$Y = (64411.1)X + (-1610.05)$	1~100	0.9998	97.0~101.9	0.19
26	3,3'-二氯联苯胺	$Y = (54787.5)X + (-14655.1)$	1~100	0.9994	93.8~102.9	0.22
27	对氨基偶氮苯	$Y = (274439)X + (9825.42)$	1~100	0.9995	95.7~103.4	0.08
28	4,4'-次甲基-双-(2-氯苯胺)	$Y = (32777.4)X + (-4431.91)$	1~100	0.9993	96.7~103.9	0.22
29	邻氨基偶氮甲苯	$Y = (212011)X + (309.483)$	1~100	0.9978	91.9~105.1	0.10

2.3 精密度

以95%乙醇作模拟物为例,对浓度分别为2和10 ng/mL的标准工作溶液连续测定6次,考察仪器的精密度,结果如表4所示,在此模拟物介质下,29种芳香族伯胺的保留时间和峰面积的标准偏差分别小于0.37%和5.23%,仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

序号	化合物名称	RSD%(2 ng/mL)		RSD% (10 ng/mL)	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	对苯二胺	0.14	1.15	0.11	1.34
2	间苯二胺	0.14	1.35	0.10	0.98
3	2,4-二氨基苯甲醚	0.10	5.12	0.09	4.26
4	2,3-二氨基甲苯	0.27	3.46	0.23	3.05
5	苯胺	0.29	0.78	0.32	4.29
6	4,4'-二氨基二苯醚	0.25	1.36	0.37	1.72
7	联苯胺	0.29	2.56	0.27	2.53
8	4,4'-二氨基二苯甲烷	0.13	3.81	0.18	1.34
9	邻甲氧基苯胺	0.17	1.37	0.19	0.85
10	邻甲苯胺	0.09	1.61	0.19	0.33
11	3,3'-二甲基-4,4'-二氨基二苯甲烷	0.08	2.28	0.16	2.33
12	2,4-二甲基苯胺	0.09	2.63	0.13	1.84
13	2,4-二氨基二苯甲烷	0.09	2.34	0.12	2.31
14	3,3'-二甲氧基联苯胺	0.15	5.23	0.13	4.43
15	3,3'-二甲基联苯胺	0.09	3.36	0.10	2.93
16	3-氨基对甲苯甲醚	0.08	1.33	0.11	1.47
17	2,4,5-三甲基苯胺	0.10	0.58	0.03	2.67
18	4,4'-二氨基二苯硫醚	0.07	4.12	0.06	0.91
19	对氯苯胺	0.07	1.84	0.04	1.41
20	2-萘胺	0.06	2.83	0.05	1.22
21	2,6-二甲基苯胺	0.05	2.48	0.03	0.51
22	2,2'-二氨基二苯甲烷	0.11	2.35	0.03	1.01
23	4-氨基联苯	0.06	2.39	0.03	1.42
24	4-氯邻甲苯胺	0.04	2.06	0.02	2.02
25	2-氨基-4-硝基甲苯	0.04	1.10	0.05	0.93

26	3,3'- 二氯联苯胺	0.05	3.63	0.04	2.90
27	对氨基偶氮苯	0.05	1.91	0.03	1.04
28	4,4'- 次甲基 - 双 -(2- 氯苯胺)	0.05	4.68	0.03	3.01
29	邻氨基偶氮甲苯	0.06	2.73	0.05	2.58

2.4 回收率

按 1.4.2 方法, 选择在模拟物 95% 乙醇上进行加标回收迁移实验, 加标浓度 10.0 ng/mL, 溶液提取参考 1.4.3, 上机测试, 考察在该模拟物下的回收率。29 种芳香族伯胺在 95% 乙醇介质下的空白及其加标色谱图如下图 3 和 4, 回收率如表 5 所示。表 5 结果显示, 29 种芳香胺在 4% 乙酸模拟物下的加标回收率在 78.8~108% 之间, 回收率整体良好。

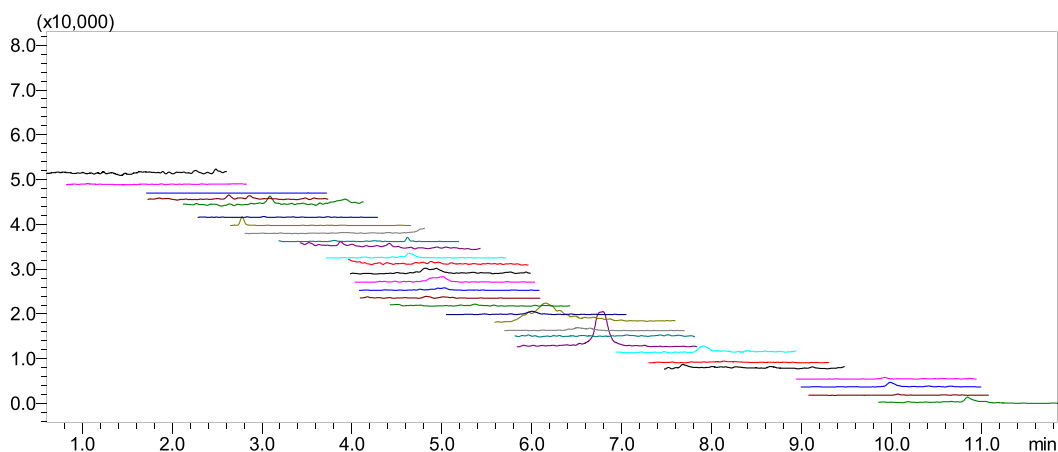


图 3 29 种芳香族伯胺空白基质色谱图 (95% 乙醇)

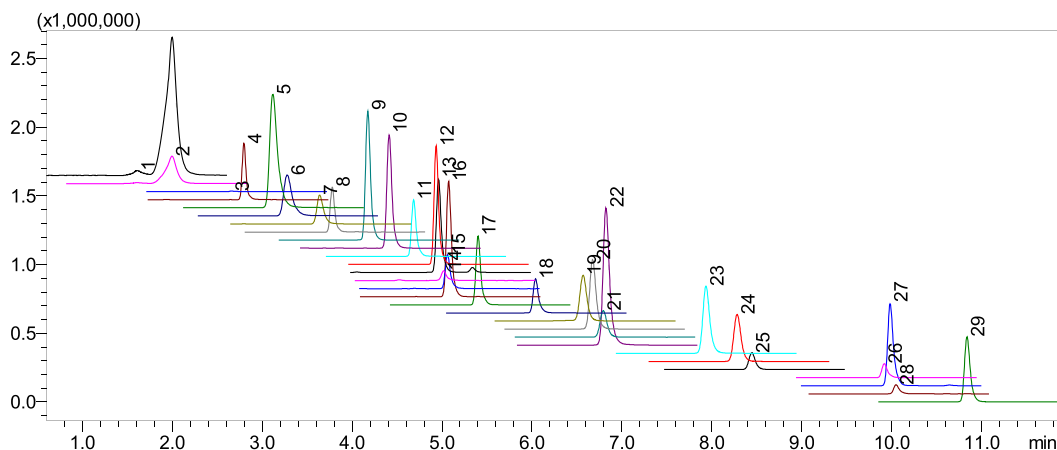


图 4 29 种芳香族伯胺加标回收实验测试色谱图 (10 ng/mL, 95% 乙醇)

表 5 加标回收率考察 (95% 乙醇)

序号	化合物名称	回收率 (%)			平均回收率 (%)
		No.1	No.2	No.3	
1	对苯二胺	78.6	83.5	81.8	81.3
2	间苯二胺	80.3	77.5	84.1	80.6
3	2,4- 二氨基苯甲醚	82.1	90.4	86.5	86.3
4	2,3- 二氨基甲苯	81.5	87.2	83.6	84.1
5	苯胺	78.1	83.9	82.1	81.4
6	4,4'- 二氨基二苯醚	79.2	75.4	81.8	78.8
7	联苯胺	85.9	82.5	86.7	85.0
8	4,4'- 二氨基二苯甲烷	87.9	84.1	80.5	84.2
9	邻甲氧基苯胺	93.6	88.6	84.8	89.0
10	邻甲苯胺	95.8	104.6	93.3	97.9
11	3,3'- 二甲基-4,4'- 二氨基二苯甲烷	79.8	96.1	92.9	89.6
12	2,4- 二甲基苯胺	93.4	98.4	103.9	98.6
13	2,4- 二氨基二苯甲烷	74.9	88.2	82.6	81.9
14	3,3'- 二甲氧基联苯胺	80.8	88.9	92.1	87.3
15	3,3'- 二甲基联苯胺	82.9	84.4	89.8	85.7
16	3- 氨基对甲苯甲醚	86.7	85.2	87.3	86.4
17	2,4,5- 三甲基苯胺	78.6	81.4	81.7	80.6
18	4,4'- 二氨基二苯硫醚	81.9	78.6	84.3	81.6
19	对氯苯胺	107.1	110.6	106.3	108.0
20	2- 萘胺	94.2	91.6	90.9	92.2
21	2,6- 二甲基苯胺	108.1	96.4	102.6	102.4
22	2,2'- 二氨基二苯甲烷	84.5	81.2	85.3	83.7
23	4- 氨基联苯	86.2	89.4	92.5	89.4
24	4- 氯邻甲苯胺	87.1	83.1	90.5	86.9
25	2- 氨基-4- 硝基甲苯	78.3	82.7	76.9	79.3
26	3,3'- 二氯联苯胺	86.3	83.8	79.5	83.2
27	对氨基偶氮苯	81.9	78.1	85.4	81.8
28	4,4'- 次甲基-双-(2- 氯苯胺)	87.3	81	86.3	84.9
29	邻氨基偶氮甲苯	84.6	86.1	91.4	87.4

■ 结论

本文参考食品安全国家标准 GB 31604.52-2021《食品接触材料及制品中芳香族伯胺迁移量的测定》，建立一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 X3 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定食品接触材料在各模拟物下分析 29 种芳香族伯胺迁移的液质方法。该方法具有分析速度快、方法线性范围宽、灵敏度高、稳定可靠，可用于在各模拟介质下食品接触材料及制品中 29 种芳香族伯胺的快速测定。

岛津应用云

