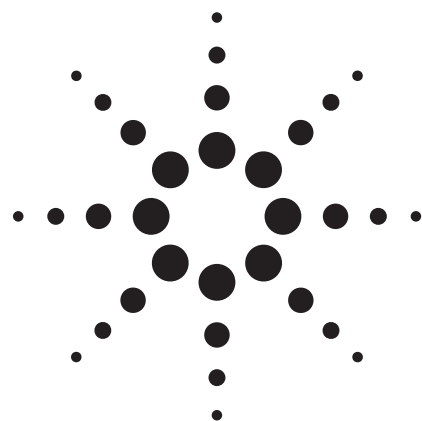


采用 LC-TOF-MS 研究 罐头涂层与食品之间的相互作用



应用简报

食品安全

作者

M. Driffield、E. L. Bradley 和 L. Castle
中心科学实验室
Sand Hutton
York, YO41 1LZ
UK

J. Wagner 和 B. Wedzicha
Proctor 食品科学系
利兹大学
Leeds, LS2 9JT
UK

J. Zweigenbaum
安捷伦科技有限公司
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

摘要

本应用简报阐述了如何在食品行业中使用飞行时间质谱研究内部有涂层的金属罐头的罐头涂层与食品界面处的相互作用。通过所得的精确质量信息，可靠地鉴定先前未确认的转移物。

前言

用来包装食品的金属罐头的内表面涂层常常在食品和罐头的金属之间形成一层屏障。涂层配方中可能含有各种成分，例如树脂、交联剂、催化剂、润滑剂、润湿剂和溶剂。这些材料中的潜在成分或它们相互反应的副产物很可能从罐头涂层中进入食品。

食品成分例如脂肪或水会引起一些涂层膨胀，这可能会增强转移作用，特别是在带包装加热食品时。转移也受其它因素影响，包括：接触时间和温度、涂层的类型和厚度以及转移物质的分子量和大小。对罐头涂层以及食品之间相互作用的研究，特别是转移建模，对于了解以及最终减少化合物从罐头涂层转移至食品中至关重要。

之前的应用简报描述了如何分析环氧树脂 [1] 和聚酯树脂 [2] 类的罐头涂层，以及母体化合物和碎片离子的精确质量信息如何显著提高未知化合物鉴定的可信度。在本应用简报中，我们描述了如何利用液相色谱/飞行时间质谱 (LC/TOF-MS) 研究罐头涂层与食品之间的相互作用。

实验部分

涂层板

将环氧酚醛树脂 (EPH) 涂漆施加到金属板上，并在 200 °C 的烘箱中固化 10 min。从金属板上切下面积为 9 cm² 的小块测试样本，并将其折叠成手风琴形状用于转移研究。

暴露于葵花籽油中

将折叠的涂层板测试样本分别浸入加压样品瓶内的葵花籽油中，用 121 °C 硅油浴恒温加热，在此条件下分别保持 10、20、30、40、50、60、70 和 120 min。暴露处理后，擦去涂层金属测试样本表面的油渍，将其浸



Agilent Technologies

入乙腈 (25 mL) 中浸泡过夜。将一部分乙腈 (1 mL) 用 0.2 mm PTFE 过滤器进行过滤。

氢氯化反应

将浓盐酸 (100 μ L) 添加到一部分 10 倍浓缩的 EPH 乙腈提取物 (500 μ L) 中。使其在密封的样品瓶中于 60 $^{\circ}$ C 下反应 18 h, 然后用乙腈定容至 1 mL。

液相色谱-荧光检测 (LC-FLD)

仪器: Agilent 1200 系列液相色谱仪和 G1321A FLD
流动相: A = 0.1% 乙酸水溶液
B = 乙腈
梯度: t = 0, B = 35%; t = 5 min, B = 50%;
t = 10 min, B = 50%; t = 20 min,
B = 100%; t = 25 min, B = 100%
流速: 1.0 mL/min
色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse XDB,
100 mm $\times$ 2.1 mm, 粒径 3.5 μ m
(部件号 961753.902)
进样量: 20 μ L
激发波长: 275 nm
发射波长: 305 nm
增益: 2^{10}

LC-FLD-TOF-MS

仪器: Agilent 1200 系列液相色谱仪、G1321A FLD
和 TOF 正离子电喷雾
流动相: A = 0.1% 乙酸水溶液
B = 乙腈
梯度: t = 0 min, B = 35%; t = 5 min, B = 50%;
t = 20 min, B = 50%; t = 30 min, B = 100%;
t = 40 min, B = 100%
流速: 0.3 mL/min
色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse XDB,
100 mm $\times$ 2.1 mm, 粒径 3.5 μ m
(部件号 961753.902)
进样量: 5 μ L
激发波长: 275 nm
发射波长: 305 nm
增益: 2^{10}
雾化器压力: 30 psi
毛细管电压: 4000 V
气体温度: 325 $^{\circ}$ C
干燥气流速: 10 L/min
碎裂电压: 150 V

酰化反应

本文采用了 Biedermann 和 Grob 所报告的方法 [3]。将一部分 EPH 乙腈提取物 (5 mL) 氮吹蒸干。加入 25 μ L 的乙酸酐和 25 μ L 的吡啶, 反应 15 min。氮吹蒸发除去多余的试剂, 将残渣复溶于 500 μ L 乙腈中。

将另一部分 EPH 乙腈提取物 (5 mL) 氮吹蒸干, 并根据上述方法采用乙酸酐进行处理。蒸发除去多余的试剂之后, 向其中加入三氟乙酸 (TFAA, 100 μ L)。反应 15 min, 然后将其氮吹蒸干, 除去多余的试剂。将干燥的残渣在 500 μ L 乙腈中复溶。

结果与讨论

在使用涂覆有通用 EPH 涂层的面板进行转移测试时, 采用 LC-FLD 对两个共洗脱峰进行研究。之前文献报道的在相似保留时间处的一对谱峰的鉴定结果是环-二-BADGE 的两个异构体 [4]。环-二-BADGE 的化学结构如图 1 所示。

如图 2 所示, EPH 涂层板于 121 $^{\circ}$ C 下暴露在葵花籽油中, 随暴露时间的延长, 共洗脱峰有所不同。可以看出两个峰 (2-1 和 2-2) 的曲线发生变化: 随着暴露时间的延长, 与峰 2-2 相比, 峰 2-1 的相对峰高有所降低, 这表明该化合物以更大的速率转移。120 min 后, 两个峰的峰高基本相同。

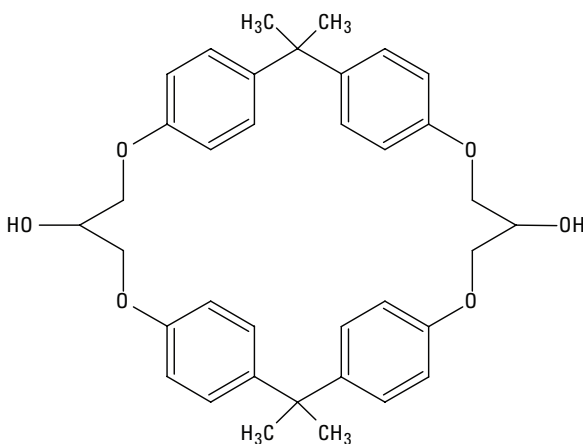


图 1. 双-二-BADGE 的结构, $C_{36}H_{40}O_6$

之前的应用简报 [1-2] 所示的 TOF-MS 鉴定功能将用于研究 EPH 提取物，以便可靠鉴定共洗脱峰并解释所看到的转移行为。LC-FLD 采用的 1.0 mL/min 流速对于 LC-TOF-MS 来说太高（尽管该 ESI 离子源能够接受 1.0 mL/min 的流速），因此采用液相色谱条件。LC-TOF-MS 仪器串联 FLD。图 3 显示了浓缩的乙腈 EPH 提取物的 FLD 色谱图。更慢的梯度意味着这些峰洗脱更迟（22.4 min 和 23.15 min），并且现在有 3 个峰，由于化合物在柱上的时间更长，因此与固定相的相互作用影响更大，最终获得了更好的峰间分离度。

该色谱图的 TOF-MS 数据（图 4）更能说明情况。有三个峰：22.13 min 处的峰 4-1，22.61 min 处的峰 4-2，

23.45 min 处的峰 4-3。峰 4-2 和 4-3 具有相同的质谱图和分子式 ($C_{36}H_{40}O_5$)，如图 5 和表 1 所示。峰 4-1 具有不同的分子式 ($C_{25}H_{34}O_5$)。

从该数据可以预测峰 4-1 的分子式为 $C_{25}H_{34}O_5$ ，鉴定结果为 BADGE.BuOH。该鉴定结果根据之前应用简报中所报道的方法推导得出 [1]。向提取物中添加 HCl 对鉴定结果进行了确证。正如预期所想，BADGE.BuOH 峰消失了，取而代之的是分子式为 BADGE.BuOH.HCl 的峰，因为 HCl 是加成在剩余的环氧化物环上。图 6 显示了相关的提取离子色谱图。图 7 显示了 BADGE.BuOH.HCl 的质谱图，实验和理论氯同位素模式之间具有出色的相关性。

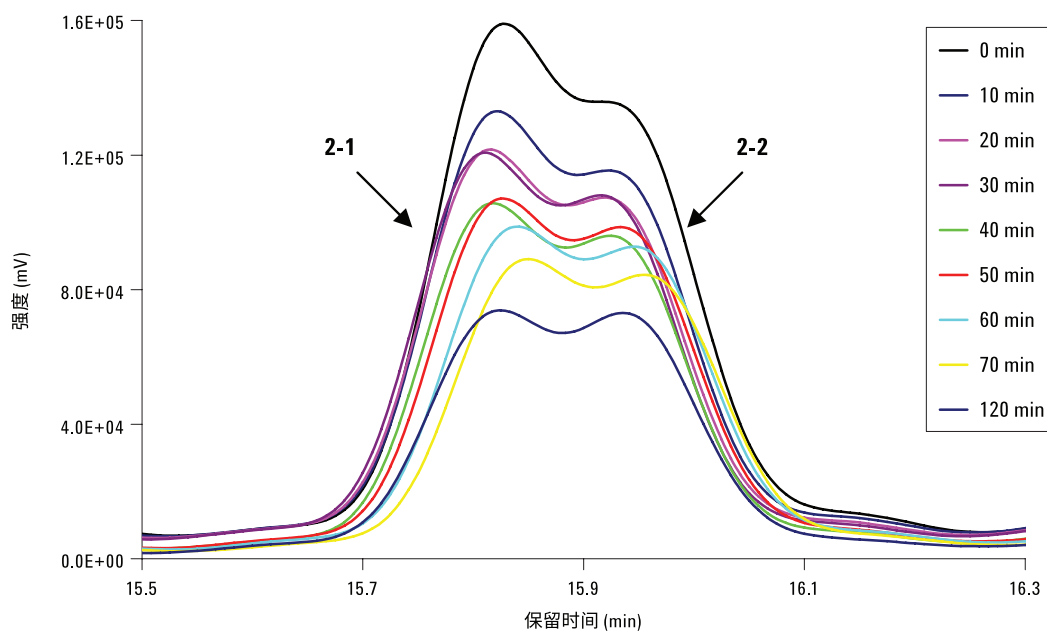


图 2. 将 EPH 罐头涂层暴露于葵花籽油不同时间段后获得的 LC-FLD 色谱图

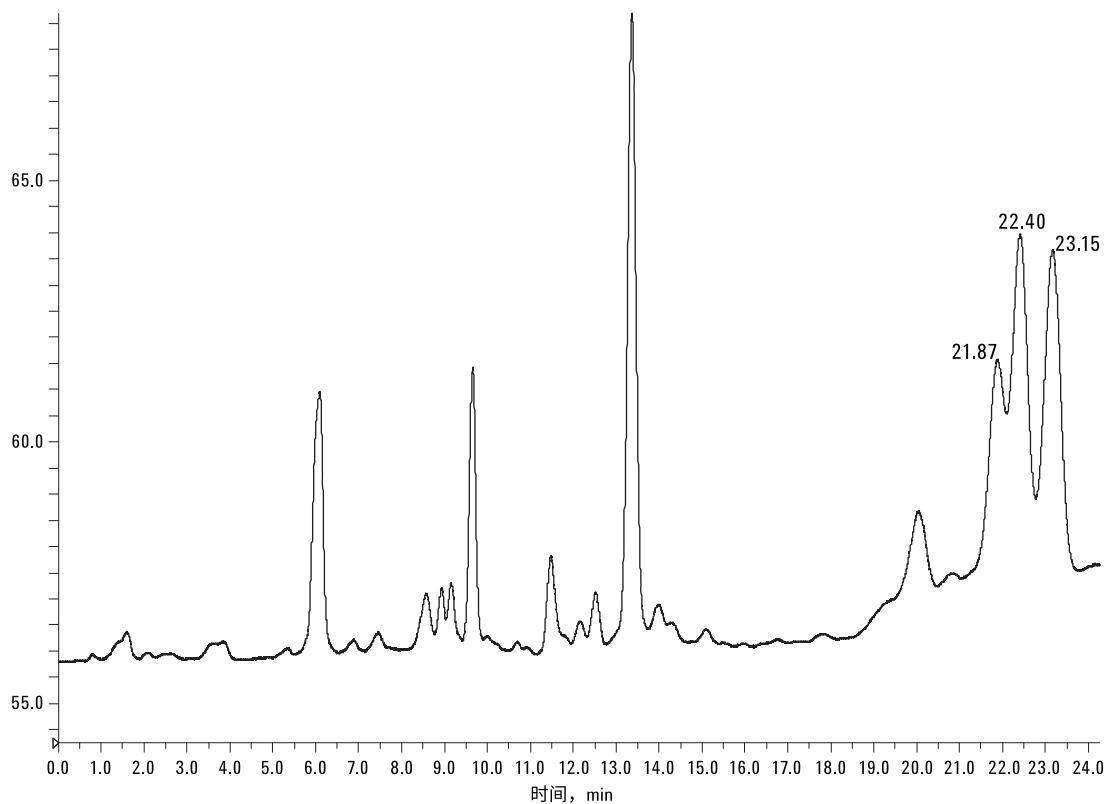


图 3. 浓缩的 EPH 乙腈提取物的 LC-FLD 色谱图

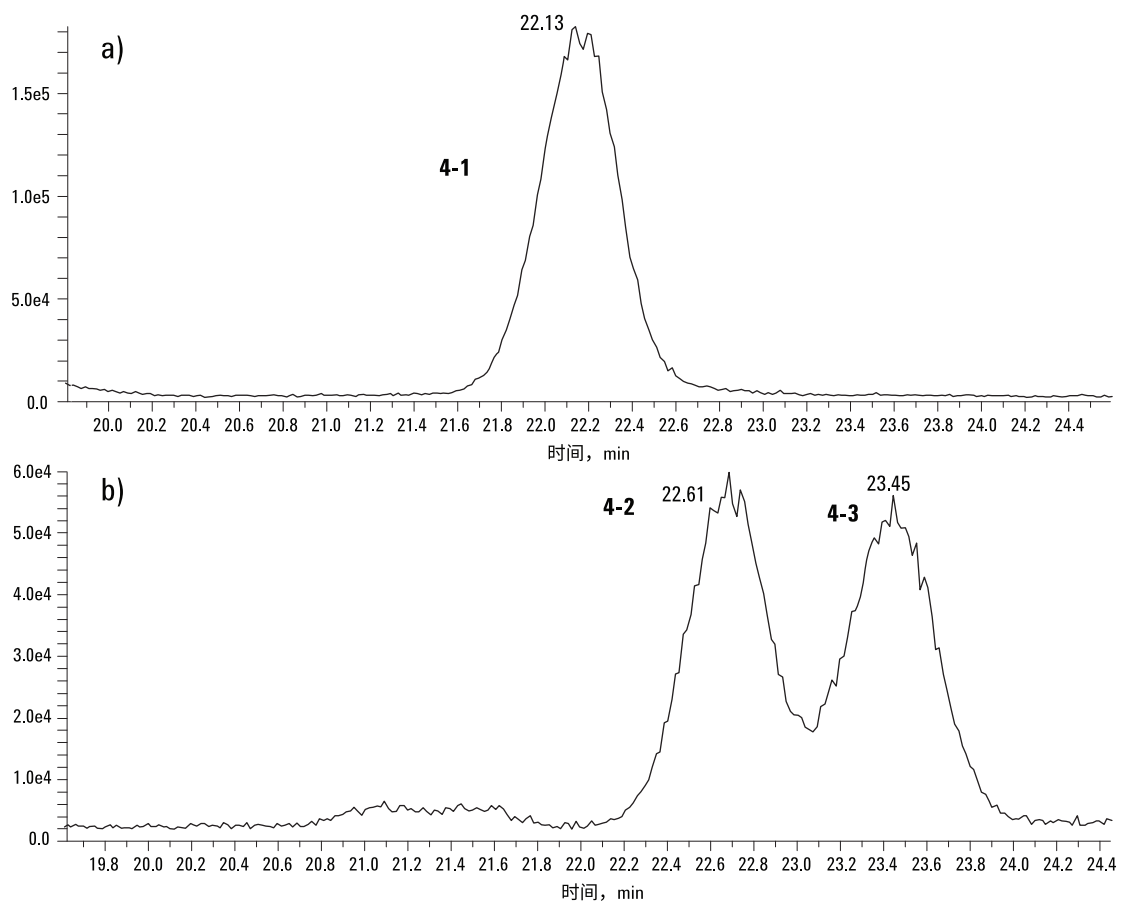


图 4. 三个目标峰的提取离子色谱: a) m/z 436.98 - 437.48 和 b) m/z 591.03 - 591.53

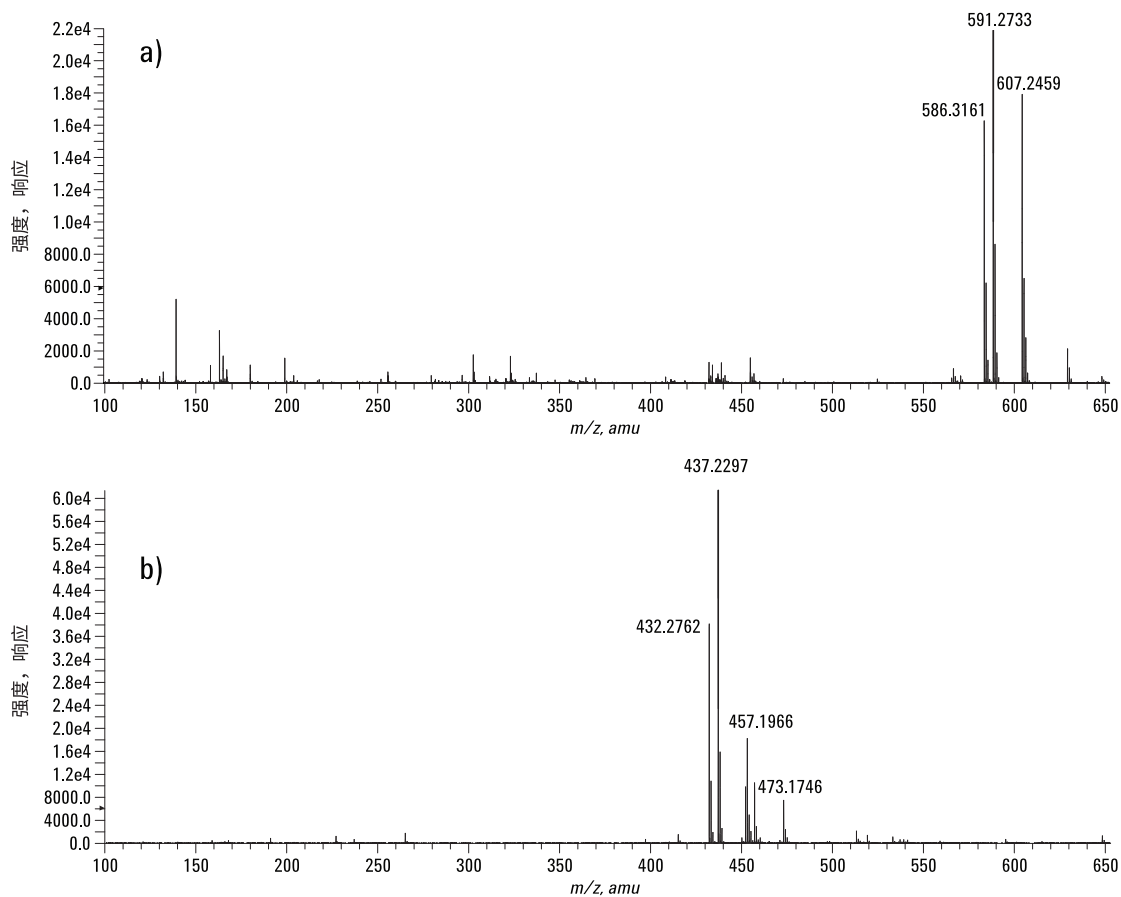


图 5. 峰 a) 4-1、b) 4-2 和 4-3 的质谱图

表 1. 峰 4-1、4-2 和 4-3 的分子式数据库信息

峰	质量数	预测的 分子式	理论 质量数	质量数误差 (PPM)	分子 加合物
4-1	432.2746	$C_{25}H_{38}NO_5$	432.2744	0.12	M+NH ₄
	437.2300	$C_{25}H_{34}O_5Na$	437.2298	0.35	M+Na
4-2	586.3163	$C_{36}H_{44}NO_6$	586.3163	-0.026	M+NH ₄
	591.2722	$C_{36}H_{40}O_6Na$	591.2717	0.83	M+Na
4-3	586.3161	$C_{36}H_{44}NO_6$	586.3163	-0.37	M+NH ₄
	591.2725	$C_{36}H_{40}O_6Na$	591.2717	1.3	M+Na

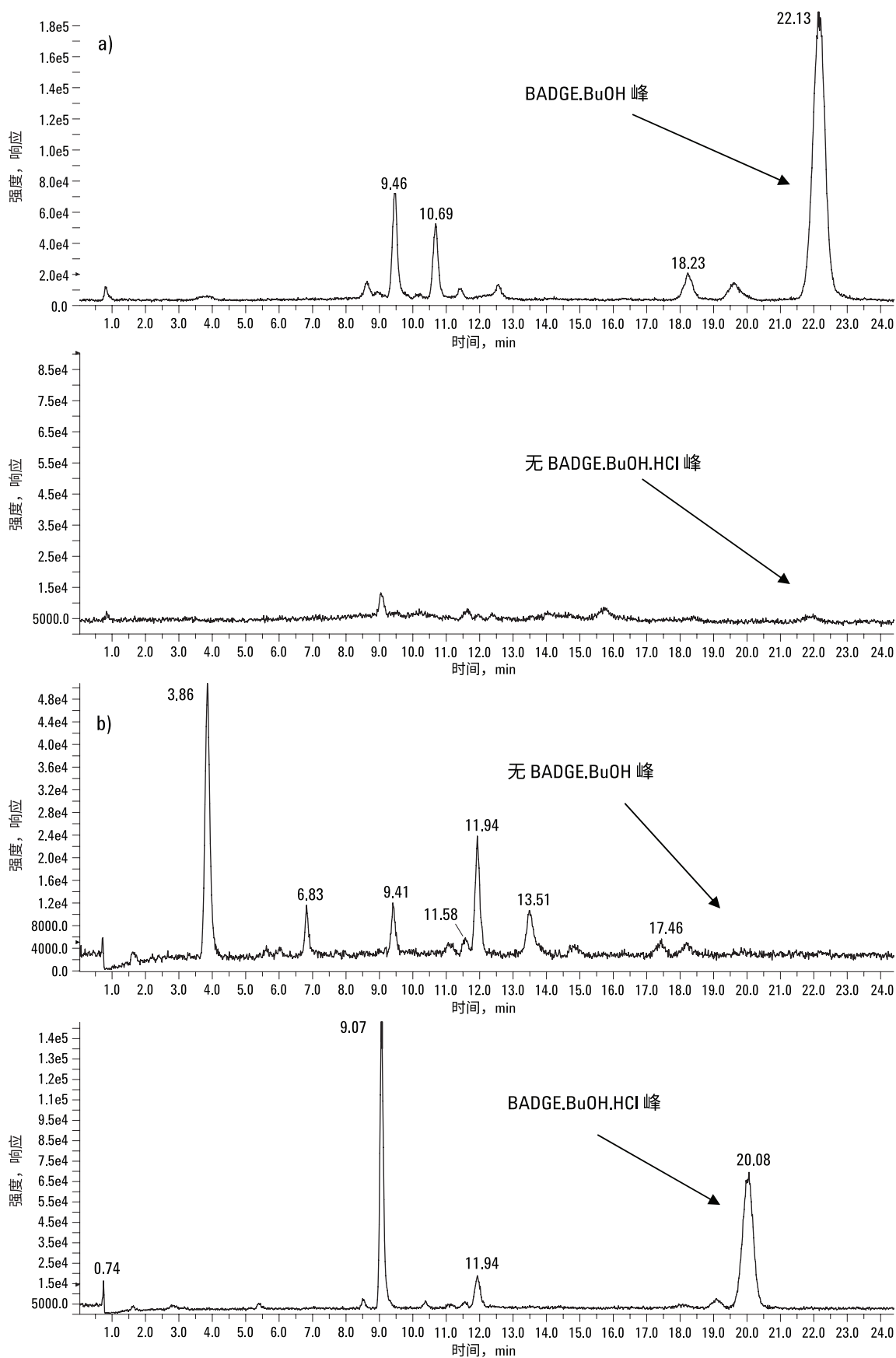


图 6. a) 未经处理的 EPH 提取物和 b) 采用 HCl 处理的 EPH 提取物的 BADGE.BuOH (m/z 437 – 438) 和 BADGE.BuOH.HCl (m/z 451 – 452) 的提取离子色谱图

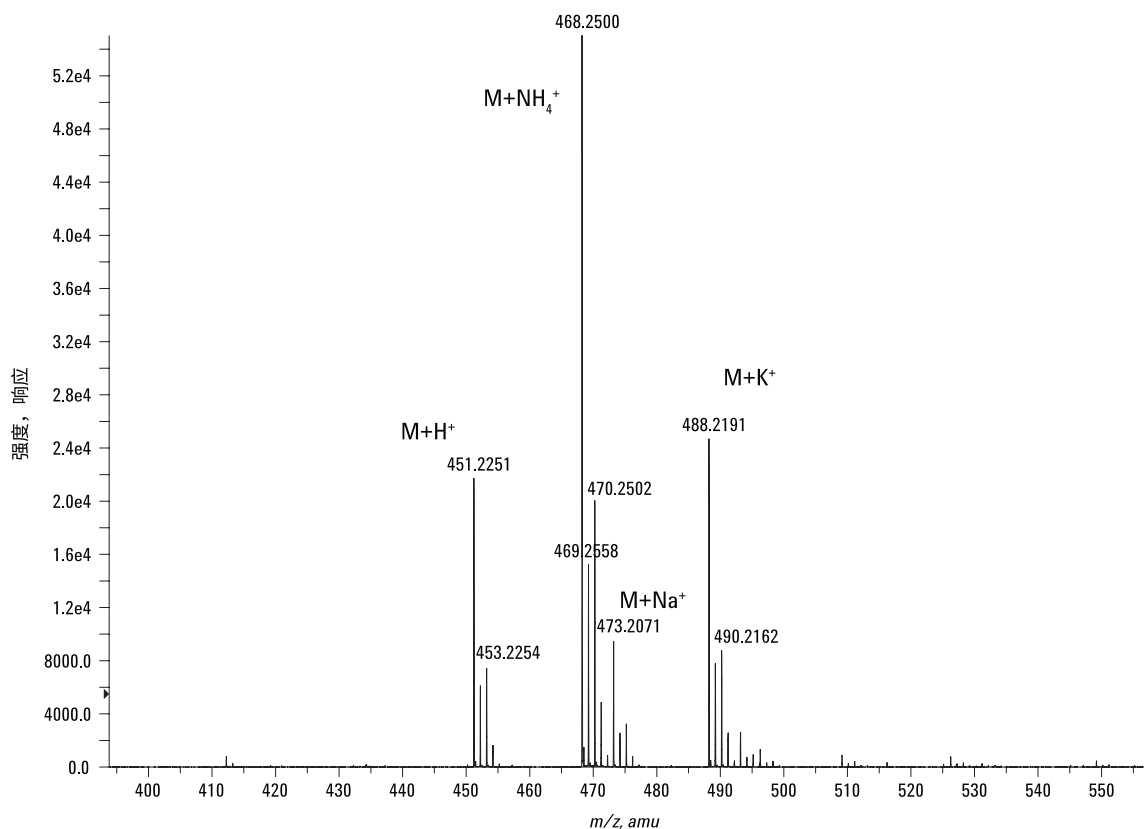


图 7. 20.1 min 处谱峰的质谱，对应于 BADGE.BuOH.HCl

峰 4-2 和 4-3 具有相同的质谱图，预测其分子式为 $C_{36}H_{40}O_6$ 。除了如上所述对应于环-二-BADGE 之外，该化合物也可对应于 BADGE.BPA，一种具有相同分子式的 BADGE 线性衍生物（参见图 8）。

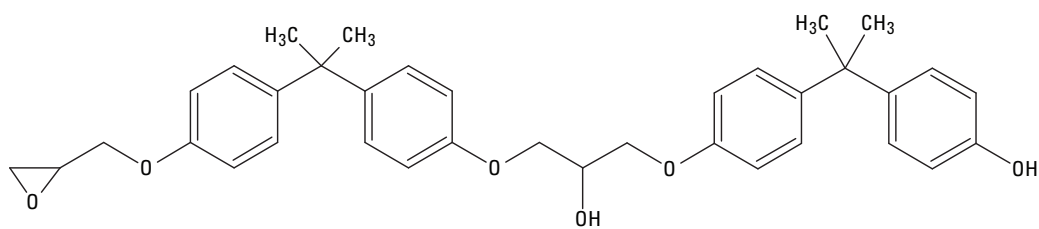
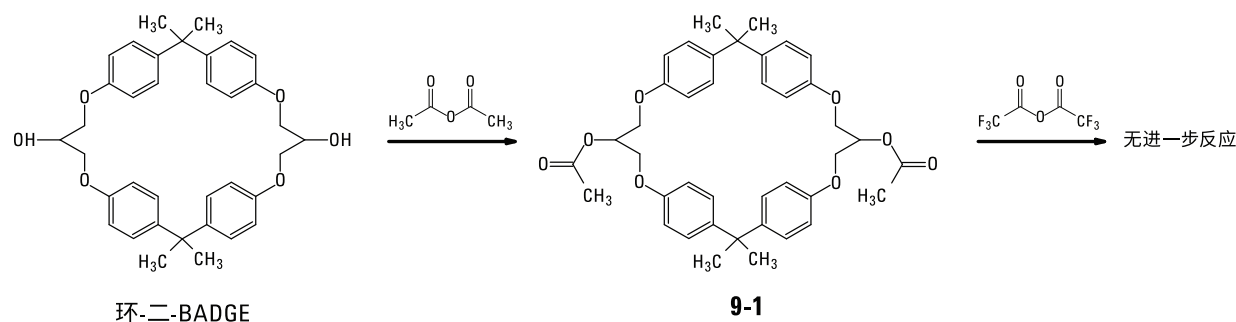


图 8. BADGE.BPA 的结构， $C_{36}H_{40}O_6$

加入 HCl 并没有改变两个共洗脱峰，表明它们实际上为环-二-BADGE 而不是 BADGE.BPA，这是因为由于 HCl 将在环氧化物环上加成，因此 BADGE.BPA 的任何峰都会消失。我们对该结论进行了进一步论证，预测的结构之间的差异之一是环-二-BADGE 具有两个羟基，而 BADGE.BPA 具有额外的环氧化物官能团以及两个羟基基团。据报道，乙酸酐和 TFAA 与羟基和环氧基团的反应方式不同 [3]。乙酸酐会引起羟基自由基的

酰化，而进一步添加 TFAA 会引起环氧化物环的酰化（参见图 9）。采用乙酸酐对 EPH 提取物进行处理后的 LC-TOF-MS 分析结果显示存在双酰基化合物，为化合物 9-1 或 9-2 ($C_{40}H_{44}O_8$)。进一步添加 TFAA 后，化合物 9-3 所对应的峰消失表明实际上两个共洗脱峰为环-二-BADGE。预测有两个峰的原因是因为存在立体异构体，其具有互为顺式或反式的两个羟基，具体取决于在形成过程中苯基的哪侧进攻环氧环 [3]。

a)



b)

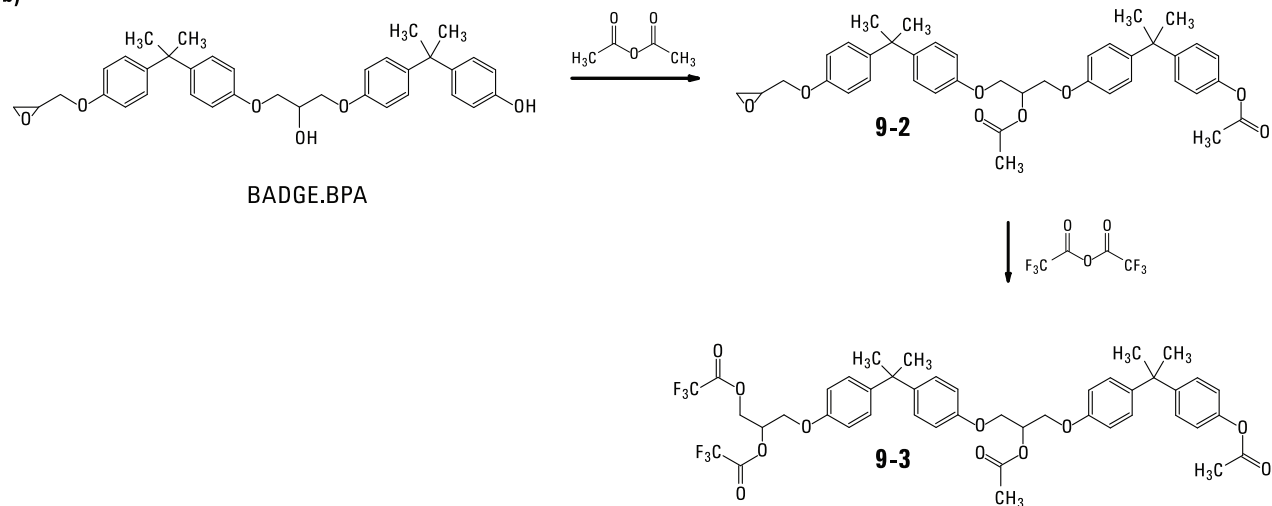


图 9. a) 环-二-BADGE 和 b) BADGE.BPA 的酰化反应

结论

在利兹大学的转移研究中，两个共洗脱峰在不同温度下暴露于葵花籽油的过程中有不同的表现。实际上有三个共洗脱峰，并且采用 LC-TOF-MS 对其进行了鉴定。第一个峰鉴定为 BADGE.BuOH，第二个和第三个峰确证为环-二-BADGE 的顺式和反式异构体。这表明最初的转移研究中呈现的不同之处是由于 BADGE.BuOH 和环-二-BADGE 之间的结构不同，BADGE.BuOH 转移至模拟物的速度快于环-二-BADGE，环-二-BADGE 的两个立体异构体彼此以同样的速度转移，可由此解释峰高的变化。

参考文献

1. M. Driffield、E. L. Bradley、L. Castle 和 J. Zweigenbaum, “使用 LC-TOF-MS 鉴定环氧酚类食品罐头涂层中未知的反应副产物和污染物” (2006) 安捷伦科技公司，出版号 5989-5898CHCN
2. M. Driffield、E. L. Bradley、L. Castle 和 J. Zweigenbaum “使用分子特征提取和数据库检索以液相色谱-飞行时间串联质谱仪鉴定新型食品罐头聚酯涂层中的未知聚酯低聚物” (2007) 安捷伦科技公司，出版号 5989-7393CHCN
3. M. Biedermann and K. Grob, “Food Contamination from Epoxy Resins and Organosols Used as Can Coatings: Analysis by Gradient NPLC,” *Food Additives & Contaminants*, (1998) 15, 5, 609-618.
4. A. Schaefer and T. J. Simat, “Migration from Can Coatings: Part 3. Synthesis, Identification and Quantification of Migrating Epoxy-Based Substances Below 1000 Da,” *Food Additives & Contaminants*, (2004) 21, 4, 390-405.

致谢

本研究是 Defra LINK 项目：FQS45 “用于食品罐涂层的新技术和新化学制剂”的一部分。非常感谢 Defra 的资助以及 Valspar 公司、Impress Group 公司和 H. J. Heinz（亨氏）公司所给予的配套资金支持。本文内容仅由作者负责，不代表资助机构的观点。

更多信息

有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2008

2008 年 3 月 11 日，中国出版

5989-8053CHCN



Agilent Technologies