

- 1977-1979,1983.
- [5] 王宏华,孙浩思,刘菲. 高效液相色谱法测定淀粉中的顺丁烯二酸[J]. 啤酒科技,2014(5):35-38.
- [6] 岳虹,赵贞,刘春霞,等. HPLC法测定发酵乳中顺丁烯二酸含量[J]. 饮料工业,2015,18(2):23-25.
- [7] 蒙泳,黎德勇,甘露,等. 高效液相色谱法测定淀粉中的顺丁烯二酸[J]. 洛阳理工学院学报(自然科学版),2012,22(2):1-4.
- [8] 李红艳,陈万勤,王瑾,等. 高效液相色谱法测定淀粉及淀粉制品中的顺丁烯二酸与顺丁烯二酸酐总含量[J]. 分析测试学报,2012,31(8):1013-1016.
- [9] 林高明,陈梅兰,胡忠阳,等. 离子色谱法测定淀粉中的顺丁烯二酸(酐)[J]. 中国卫生检验杂志,2014,24(5):668-669.
- [10] 王存进,杜晓磊. 离子色谱法测定乙醛酸中的顺丁烯二酸和乙二酸[J]. 化学分析计量,2013,22(2):94-96.
- [11] 朱晓玲,刘杰,严恒,等. 离子色谱法测定淀粉及淀粉制品中顺丁烯二酸[J]. 分析实验室,2013,32(12):109-111.
- [12] 杨若明,张经华,蓝叶芬. 毛细管电泳法对铝胁迫下小麦根部有机酸的直接测定[J]. 分析实验室,2005,24(3):16-18.
- [13] 徐敦明,陈燕,周爽,等. 液相色谱-串联质谱法测定淀粉及其制品中的顺丁烯二酸与顺丁烯二酸酐总含量[J]. 色谱,2013,31(12):1224-1227.
- [14] 孙兴权,曾明家,肖珊珊,等. 液相色谱-串联质谱法测定淀粉中顺丁烯二酸和顺丁烯二酸酐总量[C]//中国化学会第七届全国仪器分析及样品预处理学术研讨会论文集,烟台,2013. 北京:中国化学会出版,2013:190-194.
- [15] 中华人民共和国卫生部. GB 25544—2010 食品添加剂 DL-苹果酸[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 23296. 21—2009 食品接触材料 高分子材料 食品模拟物中顺丁烯二酸及顺丁烯二酸酐的测定 高效液相色谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [17] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009. 157—2003 食品中有机酸的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

实验技术与方法

液相色谱-串联质谱法检测塑料瓶装乳酸饮料中的双酚 A 含量

宁文吉¹, 马云杰², 陈秀雯¹, 李琰¹

(1. 上海市闵行区疾病预防控制中心, 上海 201101; 2. 洋山出入境检验检疫局, 上海 201306)

摘要:目的 探讨用液相色谱-串联质谱法检测瓶装乳酸饮料中双酚 A 的样品前处理及测定方法。方法 样品在碱性条件下沉淀蛋白质后,用固相萃取小柱提取,甲醇洗脱。样品经色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 5 μm)分离,以纯水-甲醇(40:60, V/V)为流动相分离。采用电喷雾电离负离子模式(ESI⁻),多反应监测(MRM),外标法定量分析。结果 该方法在 2.0 ~ 100.0 μg/L 范围内呈良好线性;仪器检出限 0.01 ng;当取样量为 10 g,方法检出限为 0.001 μg/kg;双酚 A 高、中、低加标浓度(80、50、10 μg/L)的平均回收率为 100.9% ~ 107.5%,变异系数为 6.2% ~ 7.6%。结论 该方法适用于塑料瓶装乳酸饮料中双酚 A 含量的测定,具有灵敏度高、前处理方法简单、可批量检测、检测速度快的特点,可推广检测食品样品中痕量双酚 A 含量。

关键词:液相色谱-串联质谱;瓶装乳酸饮料;双酚 A;前处理;检出限;回收率

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2016)06-0772-03

DOI:10.13590/j.cjfh.2016.06.018

Determination of BPA in plastic bottled lactic acid drinks using liquid chromatography-tandem mass spectrometry

NING Wen-ji, MA Yun-jie, CHEN Xiu-wen, LI Yan

(Minhang District Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 201101, China)

Abstract: Objective Pretreatment for bisphenol A (BPA) in plastic bottled lactic acid drinks was discussed and a method for the determination of BPA by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was established.

Methods Samples were protein precipitated under alkaline condition before solid phase extraction. The elution was separated by column with water and methanol as the mobile phase (volume ratio 40:60). LC-MS/MS ion electrospray

收稿日期:2016-08-31

基金项目:闵行区自然科学研究课题项目(2014MHZ034)

作者简介:宁文吉 女 副主任技师 研究方向为食品及环境卫生理化检验 E-mail:ningwenji@sohu.com

ionization mode (ESI-) was adopted together with multiple reaction monitoring (MRM) and external standard quantitative analysis. **Results** The method had good linearity within 2.0 to 100.0 $\mu\text{g/L}$; The instrumental detection limit was 0.01 ng; The method detection limit was 0.001 $\mu\text{g/kg}$ with the sample mass of 10 g; Recoveries of Bisphenol A of high, medium or low concentration (80、50、10 $\mu\text{g/L}$) were 100.9%-107.5%. The coefficients of variation were 6.2%-7.6%. **Conclusion** This method is suitable for the determination of trace amounts of BPA in plastic bottled lactic acid drinks with high sensitivity, simple pre-treatment, batch testing, and high-speed.

Key words: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; bottled lactic acid drinks; bisphenol A; pre-treatment; detection limit; rate of recovery

双酚 A 学名 2,2-二(4-羟基苯基)丙烷,简称二酚基丙烷(BPA),广泛用于成型塑料食品包装、食品纸质包装内涂层、食品铝罐包装内涂层中,它通过包装迁移至食品中,成为人们经常能“吃”到的物质。双酚 A 有模拟雌激素的效果,它能干扰体内正常内分泌物质的合成与代谢,影响人类生殖健康。常见的双酚 A 分析测试方法有分光光度法^[1]、荧光测定法^[2]、毛细管电泳法^[3]、气相色谱法^[4]、气相色谱-质谱联用法^[5]、液相色谱法^[6]等,这些方法有的灵敏度低,有的操作复杂,本试验探讨了塑料瓶装乳酸饮料中双酚 A 液相色谱-串联质谱分析测定的样品前处理方法,建立了液相色谱-串联质谱仪的分析条件。该方法具有灵敏度高、前处理方法简单、检测速度快的特点,可批量检测,适用于塑料瓶装乳酸饮料中双酚 A 的测定。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样品来源

塑料瓶装乳酸饮料,购于闵行区各大超市。

1.1.2 主要仪器与试剂

LC-30AD 高效液相色谱仪(日本岛津),QTRAP4500 三重四级杆质谱仪(美国 AB Sciex),EXTRA 固相萃取仪、N1 氮吹仪均购自上海屹尧,HLB 固相萃取小柱(3 ml, 60 mg, 美国 Waters Oasis),冷冻离心机。

甲醇(色谱纯);去离子水(试验用水 I 级);双酚 A 溶液标准物质[GBW(E)100205, 999 $\mu\text{g/ml}$],购自广东省计量科学研究院;浓盐酸(质量分数为 36%~38%)、浓氨水(质量分数为 25%)、硫酸锌、三水亚铁氰化钾、氢氧化钠均为分析纯。

盐酸-氨水缓冲溶液(pH = 9.6~9.7):用 600 ml 水稀释 75 ml 浓盐酸,混匀后,再加入 135 ml 浓氨水,用水稀释至 1 000 ml,混匀。硫酸锌溶液:将 53.5 g 硫酸锌溶于水中,并稀释至 200 ml。亚铁氰化钾溶液:将 17.2 g 三水亚铁氰化钾溶于水中,稀释至 100 ml。氢氧化钠溶液(40 g/L):称取 8.0 g 氢氧化钠溶于水中,稀释至 200 ml。

1.2 方 法

1.2.1 标准溶液的配制

标准使用液:准确吸取双酚 A 溶液标准物质 1 ml,用纯水定容至 10 ml,此标准使用液浓度为 99.9 $\mu\text{g/L}$ 。

1.2.2 样品前处理

取样:称取 10.0 g 样品于 250 ml 锥形瓶中,加入 20 ml 的水稀释样品,用氢氧化钠溶液调溶液 pH = 8。

乳脂肪和蛋白质的去除:按顺序加入 1 ml 硫酸锌溶液、1 ml 亚铁氰化钾溶液和 10 ml 盐酸-氨水缓冲溶液,边加边摇,充分摇匀,静置 10 min。4 $^{\circ}\text{C}$ 15 000 r/min 离心 5 min。取上清液备用。

固相萃取:用 5 ml 甲醇活化固相萃取小柱,上样,流速 5 ml/min,水淋洗去溶解性的杂质,用 5 ml 甲醇进行洗脱,将收集的洗脱液用氮吹仪吹至近干,甲醇-水(50:50, V/V)^[8]溶解定容至 1 ml,作为待测样品。

1.2.3 仪器条件

色谱条件:色谱柱:Inert Sustain Swift (2.1 mm \times 50 mm, 5 μm , 不锈钢圆柱),柱温 35 $^{\circ}\text{C}$,流量 0.25 ml/min,进样量 10 μl ,流动相为纯水-甲醇(40:60, V/V),等度洗脱。

质谱条件:电离方式为 ESI-模式^[9-11],喷雾电压(IS)4 500 V,离子源温度(TEM)550 $^{\circ}\text{C}$,气帘气压力(CUR)241 kPa,雾化气(GS1)379 kPa,辅助气(GS2)379 kPa,碰撞气流速(CAD)中等,驻留时间 100 ms,定量方式为多反应监测(MRM)模式,其他 MRM 质谱参数见表 1。

表 1 双酚 A 的 MRM 质谱参数表

母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	去簇电压/V	碰撞电压/V
227.1	212.0	-90	-23
	133.0	-90	-32

2 结果与分析

2.1 样品溶液 pH 值的控制

双酚 A 能溶解于碱性水溶液中,由于瓶装乳酸

饮料基本都偏酸性,故在取样后首先要调节样品液的 pH 值,且在去除蛋白质时用盐酸-氨水缓冲溶液,控制样品溶液 pH 值在 9.6~9.7,以提高样品提取回收率,详见表 2。

表 2 样品不同 pH 值下回收率对比试验结果

Table 2 Results of different pH samples recoveries comparison

pH 值	加标浓度 /($\mu\text{g/L}$)	回收率/%						平均回收率/%
		1	2	3	4	5	6	
pH=4	50	53.2	55.8	45.9	61.7	52.2	44.1	52.2
pH=7	50	83.3	72.5	66.4	56.9	72.6	71.4	70.5
pH=9	50	96.5	105.3	110.4	102.1	97.7	93.2	100.9

2.2 样品去除蛋白质方法的选择

研究^[7]采用乙腈直接提取,虽然乙腈本身有对

乳蛋白的沉淀作用,但由于乙腈与水互溶,且部分乳酸饮料有增稠剂,沉淀效果不理想。采用硫酸锌与亚铁氰化钠溶液沉淀蛋白质,效果良好。

2.3 样品去乳脂肪方法

采用低温 4℃ 15 000 r/min 离心 5 min,去除沉淀的蛋白质及乳脂肪,比沉淀蛋白,静置分层提高了检测速度和去除蛋白质、乳脂肪的效果。

2.4 固相萃取柱的选用及预处理

分别选用了 HLB 柱、NH2 柱进行回收率对比试验,数据显示 HLB 柱更适合样品中双酚 A 的提取,因此本试验中选取 HLB 柱,详见表 3。由于采用的固相小柱本身是塑料制品,为减少双酚 A 本底,故先用 5 ml 甲醇活化小柱。

表 3 NH2 柱、HLB 柱萃取回收率对比试验结果

Table 3 NH2, HLB column extraction recovery column comparison results

固相萃取柱	加标浓度 /($\mu\text{g/L}$)	回收率/%						平均回收率 /%	标准偏差 /%	变异系数 /%
		1	2	3	4	5	6			
HLB	10	113.2	107.5	99.8	100.6	120.4	103.2	107.5	8.1	7.5
	50	96.5	105.3	110.4	102.1	97.7	93.2	100.9	6.3	6.2
	80	105.5	97.5	109.6	108.7	97.5	91.4	101.7	7.7	7.6
NH2	10	102.4	114.4	99.5	106.7	121.2	96.6	106.8	9.4	8.8
	50	88.9	99.9	103.5	100.4	96.8	111.7	100.2	7.5	7.5
	80	93.1	97.7	94.2	110.6	104.8	89.2	98.3	7.8	7.9

2.5 线性范围及回归方程

不同浓度的 BPA 标准溶液在优化的液质条件下依次进行测定,仪器检出限 0.01 ng;当取样量为 10 g,方法检出限为 0.001 $\mu\text{g/kg}$;以双酚 A 的质量浓度为横坐标 (x),MRM 离子流峰面积为纵坐标 (y),绘制标准曲线。结果显示,双酚 A 在 2.0~100.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈良好的线性关系,相关系数 $r=0.999\ 96$,线性回归方程为 $y=19852.74744x+3.00737\times 10^4$ 。

2.6 回收率和精密度试验

回收率和精密度试验结果见表 3,样品在选定试验条件下的平均回收率在 100.9%~107.5% 之间,标准偏差在 6.3%~8.1% 之间,变异系数在 6.2%~7.6% 之间。

3 小结

本试验探讨了瓶装乳酸饮料中双酚 A 液相色谱-串联质谱法检测所需要样品的前处理方法,建立了用液相色谱-串联质谱法测定塑料瓶装乳酸饮料中双酚 A 的方法,此方法具有灵敏度高、重现性好、前处理方法简单、检测速度快等特点,可批量检测,适用于塑料瓶装乳酸饮料中双酚 A 的测定。

参考文献

- [1] 任霁晴,贾大兵,壮亚峰.紫外分光光度法测定塑料制品中双酚 A[J].吉林化工学院学报,2007,24(4):40-42.
- [2] 余宇燕,庄惠生,沙玫,等.荧光法测定食品包装材料中的双酚 A[J].分析测试学报,2006,25(5):99-101.
- [3] 蔡亚岐,江桂斌,周庆祥.胶束电动色谱法分离和测定双酚、辛基酚和壬基酚[J].分析化学研究简报,2004,32(9):1179-1181.
- [4] 唐熙,陈高群,梁鸣,等.气相色谱法测定塑料奶瓶中迁移出的双酚 A[J].福建分析测试,2010,19(4):13-15.
- [5] 卫碧文,缪俊文,于文佳.气相色谱-质谱法分析食品包装材料中双酚 A[J].分析实验室,2009,28(1):107-109.
- [6] 江明,林怡,张江华,等.高效液相色谱法测定环境中超痕量双酚 A[J].分析化学研究简报,2006,34(10):1419-1422.
- [7] 杨红梅,王浩,刘艳琴,等.液相色谱-串联三重四极杆质谱测定饮料中双酚 A 残留[J].食品研究与开发,2009,30(12):137-139.
- [8] 俞晔,袁大炜,邹建新.饮用水中双酚 A 的固相萃取-高效液相色谱-电喷雾电离串联质谱测定法[J].环境与健康杂志,2010,27(2):143-144.
- [9] 张旭龙,田延河,全小盾,等.超高压液相色谱-串联质谱法对马口铁罐内涂层中双酚 A 及其模拟迁移的测定[J].食品安全质量检测学报,2013,4(4):999-1004.
- [10] 王春明,张秋萍,李建.液相色谱-串联质谱法测定生活饮用水中双酚 A 方法验证[J].中国卫生检验杂志,2013,23(3):582-583,591.
- [11] 林少彬,廖岩,张森,等.液相色谱-串联质谱法快速鉴定输配水材料中双酚 A[J].中国卫生工程学,2007,6(3):138-140.