

# LC-MS/MS 法测定食品中 3 种双酚类化合物

## LCMSMS-889

**摘要：** 本文使用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了一种快速测定奶粉和纯净水中 3 种双酚类化合物含量的方法。样品前处理和分析方法均参考《食品安全国家标准 食品中双酚 A、双酚 F 和双酚 S 的测定》征求意见稿中的内容，样品经过提取后使用免疫亲和柱进行净化，净化液浓缩后进行液质联用分析。采用内标法建立校准曲线，3 种化合物在各自浓度范围内线性关系良好，相关系数  $r > 0.999$ 。选低、中、高 3 个浓度水平标准工作液，连续进样 6 次保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.069~0.146% 和 1.221~3.609% 之间，系统精密度良好。对 2 种样品分别进行了加标回收实验，回收率在 93.7-102.5% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可为相关检测人员提供帮助。

**关键词：** 三重四极杆液质联用仪 双酚类化合物 奶粉 纯净水

### 技术特点：

- ❖ 本方法前处理样品净化使用免疫亲和柱，样品回收率高。
- ❖ 本方法使用 Shim-pack Scepter 色谱柱，各化合物分离度和峰形均良好

近年，双酚类化合物被大量用于制造日常生活用品，其中双酚 A (BPA) 主要用于生产聚碳酸酯、环氧树脂、不饱和聚酯树脂等，双酚 F (BPF) 和双酚 S (BPS) 可用于生产环氧树脂。随着这些材料的使用，人们发现它们可以转移到环境、食品及饮用水中，对人类的健康造成很大威胁。研究表明，双酚类化合物可以和激素受体结合，从而干扰人体内分泌系统，影响机体正常代谢。因此，建立一种检测双酚类化合物含量的方法，对监督产品安全保护身体健康有很大意义。

目前对于双酚类化合物检测的方法主要有气相色谱法 (GC)、液相色谱法 (LC)、气相色谱-质谱联用法 (GC-MS)、液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS)，其中液质法具有高灵敏度和低检出限的特点被广泛应用。

本文参考《食品安全国家标准 食品中双酚 A、双酚 F 和双酚 S 的测定》征求意见稿中的方法，使用岛津 LCMS-8045，建立了一种快速准确测定奶粉和纯净水中这 3 种双酚类化合物的方法，该方法准确可靠，可为相关检测人员提供帮助。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A 5R
输液泵：	LC-30AD×2	柱温箱：	CTO-20A
自动进样器：	SIL-30AC	质谱仪：	LCMS-8045
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.118		

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Scepter C18-120 (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-31012-05)

流动相：A- 水；B- 甲醇 流速：0.3 mL/min

进样体积：5 μL 柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 40%，时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
0.50	泵	B Conc	40
5.00	泵	B Conc	100
6.00	泵	B Conc	100
6.10	泵	B Conc	40
9.00	控制器	STOP	

## 质谱条件

离子化模式：	ESI-	雾化气流速：	3.0 L/min
接口电压：	4 kV	干燥气流速：	10.0 L/min
接口温度：	300°C	加热气流速：	10.0 L/min
D L 温度：	250°C	碰撞气：	氩气
加热模块温度：	400°C	扫描模式：	多反应监测 (MRM)
MRM 参数：	见表 2		

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	结构式	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	双酚 A	$C_{15}H_{16}O_2$	80-05-7	227.15	212.15*	26	20	40
					133.15	20	25	20
2	双酚 F	$C_{13}H_{12}O_2$	620-92-8	199.05	93.15*	22	23	32
					105.15	22	23	20
3	双酚 S	$C_{12}H_{10}O_4S$	80-09-1	249.00	108.05*	20	30	34
					156.05	20	22	30
4	$^{13}C_{12}$ -双酚 A	$C_3^{13}C_{12}H_{16}O_2$	263261-65-0	239.10	224.10	30	20	20
5	$^{13}C_{12}$ -双酚 F	$C^{13}C_{12}H_{12}O_2$	1410794-08-9	211.00	99.10	24	26	36
6	$^{13}C_{12}$ -双酚 S	$^{13}C_{12}H_{10}O_4S$	1991267-29-8	261.00	114.05	20	31	40

\* 代表定量离子对。

## 1.3 试剂和材料

标准品：购于天津阿尔塔科技有限公司，于 -20°C 冰箱保存，备用。

双酚 A、双酚 F 和双酚 S 复合免疫亲和柱，购于北京维德维康生物技术有限公司，4°C 冰箱保存，备用。

磷酸盐缓冲溶液 (以下简称 PBS)：称取 4.00 g 氯化钠、0.60 g 磷酸氢二钠、0.10 g 磷酸二氢钾、0.10 g 氯化钾，用 450 mL 水溶解，用盐酸溶液调节 pH 至 7.4±0.1，再加水稀释至 500 mL。

## 1.4 标准溶液配制

标准混合使用液 (BPA 和 BPF: 100 µg/L, BPS: 10 µg/L)：分别准确吸取 BPA、BPF 和 BPS 标准品适量，用甲醇-水溶液 (40+60) 配制成 BPA、BPF 浓度为 100 µg/L, BPS 浓度为 10 µg/L 的混合溶液，混匀。临用现配。

同位素内标混合使用液 ( $^{13}C_{12}$ -BPA 和  $^{13}C_{12}$ -BPF: 100 µg/L,  $^{13}C_{12}$ -BPS: 10 µg/L)：分别准确吸取  $^{13}C_{12}$ -BPA、 $^{13}C_{12}$ -BPF 和  $^{13}C_{12}$ -BPS 标准品适量，用甲醇-水溶液 (40+60) 配制成  $^{13}C_{12}$ -BPA、 $^{13}C_{12}$ -BPF 浓度为 100 µg/L,  $^{13}C_{12}$ -BPS 浓度为 10 µg/L 的混合溶液，混匀。临用现配。

混合标准系列工作液：分别准确吸取一定量的标准混合使用液和同位素内标混合使用液，用甲醇 - 水溶液（40+60）配制成表 3 所示的 6 个浓度点，临用现配。

表 3 混合标准工作液中各标准物质的浓度 (μg/L)

序号	名称	浓度 1	浓度 2	浓度 3	浓度 4	浓度 5	浓度 6
1	BPA	1	2	4	8	10	20
2	BPF	1	2	4	8	10	20
3	BPS	0.1	0.2	0.4	0.8	1	2
4	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -BPA	5	5	5	5	5	5
5	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -BPF	5	5	5	5	5	5
6	<sup>13</sup> C <sub>12</sub> -BPS	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

## ■ 样品前处理

### 2.1 试样提取

奶粉试样提取：称取 1 g 试样（精确至 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入 50 μL 同位素内标混合使用液，振荡混合后静置 30 min。加入 2 mL 水，涡旋振荡 30 s，再加入 5 mL 乙腈涡旋混合，混合液超声提取 15 min，4°C 下 10000 r/min 离心 10 min。取上清液置于玻璃氮吹管中，于 40°C 水浴中氮吹至约 2 mL，加入 8 mL PBS 混匀，待净化。

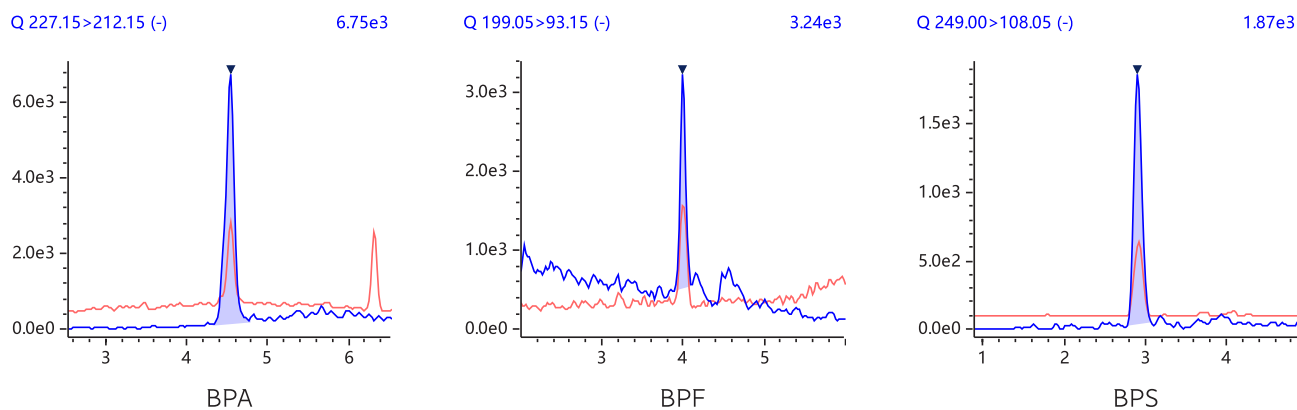
水试样提取：称取 5 g 试样（精确至 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入 50 μL 同位素内标混合使用液，振荡混合后静置 30 min。加入 15 mL PBS 混匀，待净化。

### 2.2 试样净化

将低温下保存的免疫亲和柱恢复至室温，然后让柱内原有液体自然流尽。取 2.1 中试样提取液全部过柱，自然流干，弃去全部流出液，再用 10 mL 水淋洗免疫亲和柱。待水滴完后，用真空泵抽干免疫亲和柱。加入 1 mL 甲醇洗脱，收集洗脱液于玻璃氮吹管中，于 40°C 水浴中氮吹至干。准确加入 0.4 mL 甲醇，涡旋混合 10 s，再准确加入 0.6 mL 水，涡旋混合后转移至 2 mL 聚丙烯离心管中，10000 r/min 下离心 5 min，取上清液供液相色谱 - 串联质谱仪测定。

## ■ 结果与讨论

### 3.1 标准溶液谱图



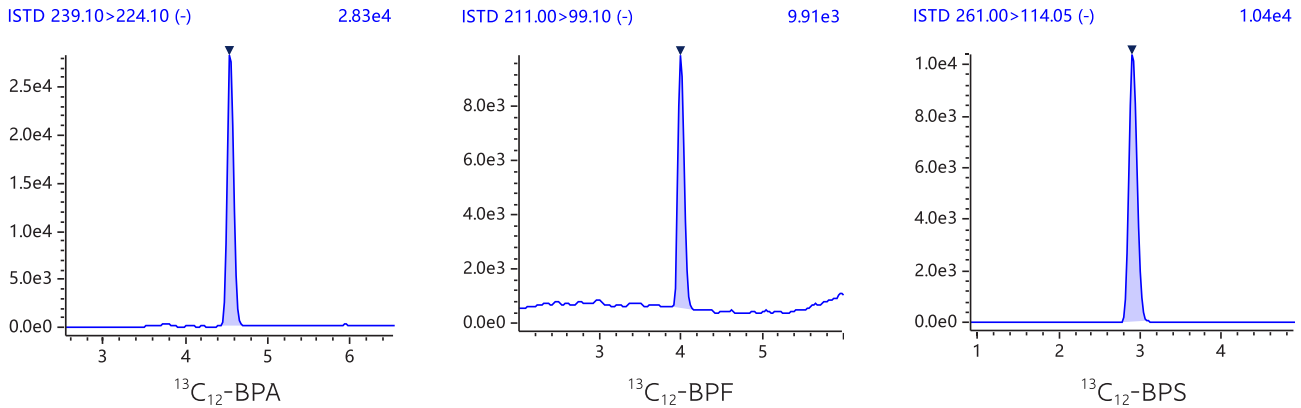


图 1 校准曲线最低点各化合物的 MRM 色谱图

### 3.2 校准曲线和灵敏度

将配制好的混合标准系列工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，采用内标法计算，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标做标准曲线，结果如图 2 所示。BPA、BPF 在 1–20  $\mu\text{g/L}$ ，BPS 在 0.1–2  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内，均具有较好的线性关系，线性相关系数  $> 0.999$ 。选择浓度最低点的混合标准溶液，按照上述分析条件上机进行测定，以 ASTM 作为噪音计算方法，根据  $S/N=3$  为检出限计算的原则，计算 3 种化合物的检出限和定量限，具体结果见表 4。

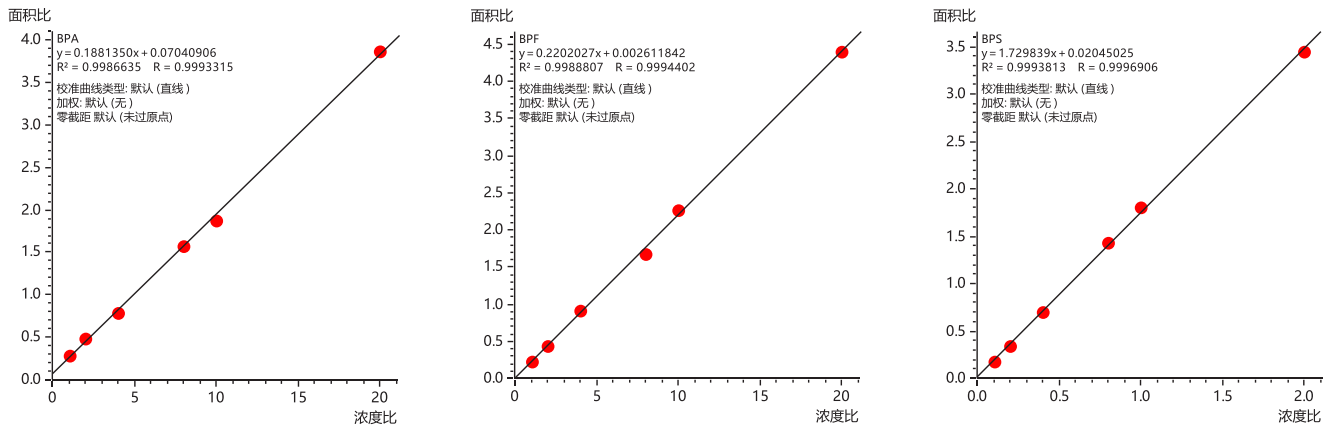


图 2 校准曲线

表 4 校准曲线参数

序号	化合物名称	标准曲线	相关系数 r	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	准确度 %	检出限 ( $\mu\text{g/L}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )
1	BPA	$Y = 0.1881 X + 0.0704$	0.9993	1-20	95.7-112.3	0.03	0.10
2	BPF	$Y = 0.2202 X + 0.0026$	0.9994	1-20	94.9-103.7	0.27	0.83
3	BPS	$Y = 1.7298 X + 0.0205$	0.9997	0.1-2	93.8-102.9	0.01	0.02

### 3.3 重复性实验

分别选取混合标准系列工作液中的浓度 1、浓度 3 和浓度 5 三个级别的溶液上机分析，每个浓度连续进样 6 次，考察仪器的重复性。结果如表 5 所示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.069~0.146% 和 1.221~3.609% 之间，仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

序号	名称	RSD% (浓度 1)		RSD% (浓度 3)		RSD% (浓度 5)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	BPA	0.072	2.819	0.110	1.221	0.097	1.395
2	BPF	0.069	3.036	0.144	1.786	0.103	1.226
3	BPS	0.119	3.609	0.123	1.899	0.146	1.512

### 3.4 实际样品和回收率测试

分别取市售奶粉和纯净水样品适量, 按照 2.0 中方法提取和净化样品后得到 2 种样品溶液。并对两种样品分别进行加标回收实验, 处理方法与之前相同, 4 份溶液上机检测。加标量及 4 份样品检测结果见表 6。

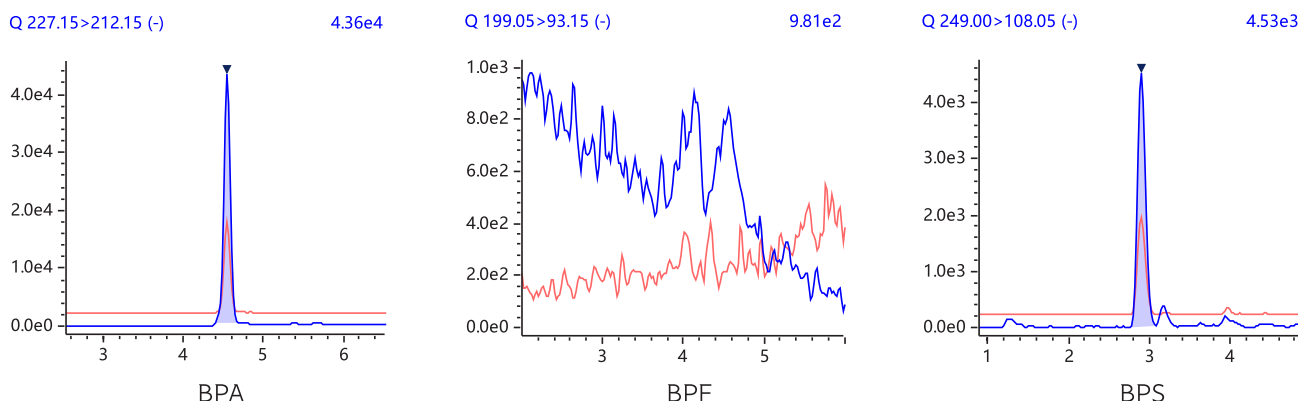


图 3 奶粉样品溶液中各化合物的 MRM 色谱图

表 6 检测结果 (n=3)

化合物名称	奶粉本底 (µg/L)	加标量 (µg/L)	奶粉加标样品		纯净水本底 (µg/L)	加标量 (µg/L)	纯净水加标样品	
			回收率 %	RSD%			回收率 %	RSD%
BPA	10.69	5	96.8	1.05	7.35	5	100.6	1.79
BPF	N.D.	5	100.6	1.35	N.D.	5	99.2	1.77
BPS	0.30	0.5	102.5	1.97	0.04	0.5	93.7	1.46

N.D. 代表未检测到

## ■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用系统检测奶粉和纯净水中 3 种双酚类化合物含量的方法。3 种双酚类化合物在各自的浓度范围内线性关系均良好, 相关系数  $r > 0.999$ , 加标浓度为 5 µg/L (以 BPA 计) 的样品回收率在 93.7-102.5% 之间。该分析方法灵敏度高, 重复性好, 准确度高, 可供相关行业检测人员参考使用。

岛津应用云

