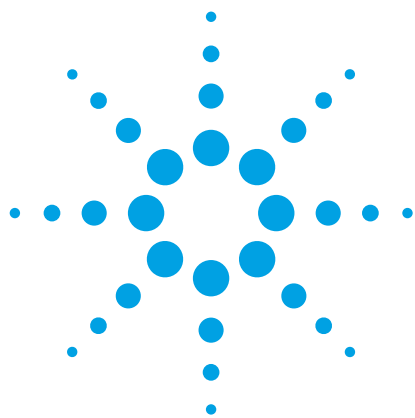




使用 UHPLC-MS/MS 与带荧光检测器的液相色谱评估双酚 A 从包装材料到食品模拟物的特定迁移

应用简报

作者

Mary Ângela Fávaro Perez、
Marisa Padula、Jozeti Gatti 和
Patrícia Cristina de Lima
食品技术研究院
巴西圣保罗州坎皮纳斯

Daniela Daniel
安捷伦科技公司

摘要

双酚 A (2,2-二(4-羟基苯基)丙烷)，也就是 BPA，主要用于生产环氧树脂，用作食品和饮料罐内表面和外表面的涂层材料。此外，BPA 还用来生产聚碳酸酯树脂。目前已经确定 BPA 是一种内分泌干扰物，全球各大健康职能部门对其进行了评估。这些监管机构确认使用 BPA 是安全的，但禁止将 BPA 用于一岁以内婴儿用奶瓶中。BPA 允许用于其他产品中，具体的限值为在 1 kg 食品中迁移 0.6 mg。食品包装材料必须满足该限值。为确认是否符合法规要求，本研究使用带荧光检测器的液相色谱或 UHPLC-MS/MS 检测食品模拟物中 BPA 的特定迁移 (SM)。本研究旨在验证使用上述两种设备检测食品模拟物中 BPA 特定迁移的方法有效性。对于水性模拟物，使用 UHPLC-MS/MS 得到的检测限 (LOD) 要比 HPLC-FL 的 LOD 低 10-30 倍，对于相同模拟物，使用 UHPLC-MS/MS 得到的定量限 (LOQ) 则比 HPLC-FL 大约低 10 倍。对于脂肪模拟物，使用 UHPLC-MS/MS 得到的 LOD 比 HPLC-FL 低近 5 倍，LOQ 则要低 2.4 倍。UHPLC-MS/MS 的特异性及其出色的 LOD 和 LOQ 证明其能够有力支持食品中 BPA 迁移的深入研究以确定消费者暴露量，并帮助健康职能部门监测食品中的 BPA。



Agilent Technologies

前言

环氧树脂涂层对基质的粘附性强、灵活性高、耐化学腐蚀性好，因此被广泛用于食品和饮料罐等产品。环氧丙烯酸酯树脂水性清漆是铝合金软饮两片罐最常用的清漆。环氧胺树脂清漆用于甜炼乳钢制三片罐，而环氧酚醛树脂清漆则用于奶油、番茄产品以及灌装玉米和豌豆的钢制三片罐。由于 BPA 会影响人体健康，已确认为内分泌干扰物，目前 EFSA、FDA、加拿大卫生部以及 ANVISA 等健康监管部门对其进行了评估。这些监管机构确认使用 BPA 是安全的，但禁止将 BPA 用于一岁以内婴儿用奶瓶中。BPA 可用于其他应用，欧洲、南方共同市场及巴西的相关法规规定在 1 kg 食品中的特定迁移限值为 0.6 mg [1,2,3]。因此，食品包装必须满足此限值要求。为确认是否符合法规要求，本研究检测了几种食品模拟物的特定迁移 (SM)，这几种模拟物分别代表了不同类型的食品。蒸馏水、乙酸溶液 (3% w/v)、乙醇溶液 (50% v/v) 以及橄榄油分别代表水、酸、酒精及乳制品和脂质食品 [4]。

将欧洲标准化委员会开发的方法 CEN/TS 13130-13:2005 [5] 用作测定双酚 A 特定迁移的参考方法，该方法采用带荧光检测器的 HPLC 进行。不过据文献报道，对于检测食品模拟物中的 BPA，荧光检测器是一种高效手段，但检测食品中的该单体，或是确证食品或食品模拟物中是否存在该单体，则需要液质联用系统。想确定 BPA 对消费者的暴露量，首先得知道该物质在食品中的含量。

本研究旨在验证食品中 BPA 特定迁移量的两种检测方法：UHPLC-MS/MS 和带荧光检测器的 HPLC，通过比较这两种方法获得的结果来得出结论。

实验部分

UHPLC-MS/MS

液相色谱条件

仪器	Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统
色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 µm (部件号 959757-902)
柱温	30 °C
进样量	10 µL
流动相	甲醇:0.1% 乙酸水溶液 (70:30/v:v)，等度洗脱
流速	0.3 mL/min

质谱条件

仪器	Agilent 6400 系列三重四极杆液质联用系统
离子模式	AJS-ESI，负离子化
毛细管电压	3500 V
干燥气流速 (N ₂)	10 L/min
干燥气温度	250 °C
雾化气压力	45 psi
鞘气温度	300 °C
鞘气流速	10 L/min

HPLC-荧光

液相色谱条件

仪器	Agilent 1200 Infinity 系列
色谱柱	Agilent 100 RP 18e (Lichrospher) 4.0 mm × 250 mm, 5 µm (部件号 799250DE-584)
柱温	30 °C
进样量	50 µL
流动相	水性模拟物：甲醇:水 (70:30/v:v) 脂肪模拟物：甲醇:水 (60:40/v:v)；等度洗脱
流速	1.0 mL/min

荧光条件

仪器	Agilent 1200 Infinity 系列
发射波长	275 nm
发射波长	305 nm

表 1 列出了用于监测双酚 A 的离子。响应强度最高的离子对作为定量离子 (m/z 133)，强度次高的离子对作为定性离子 (m/z 211.1)，进行确证分析

表 1. 所选化合物的保留时间和 MRM 条件

RT (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间 (ms)	碎裂电压 (V)	CE (V)	池加速电压 (V)
1.0	227.1	211.1	200	139	24	4
		166.8			52	
		133			24	

依据 INMETRO DOQ-CGCRE-008 中的方法 [6]，检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 的确定方法为：将相同浓度的不同溶液进样 7 次（质谱检测器的进样浓度为 80 $\mu\text{g/L}$ ，荧光检测器的进样浓度为 188 $\mu\text{g/L}$ ）。采用四种食品模拟物：蒸馏水、乙酸溶液 (3% w/v)、乙醇溶液 (50% v/v) 和橄榄油确定检测限。

根据迁移检测结果决定回收率测定的样品前处理方法 [4]。将加标了分析物（水性模拟物：90、600 和 1200 $\mu\text{g/L}$ ，脂肪模拟物：300、600 和 1200 $\mu\text{g/L}$ ）的样品一式三份于 40 °C 下放置 10 天，模拟室温下食品与包装材料长时间接触的过程。然后将样品用于分析。本实验使用了四种模拟物。

连续六次重复进样浓度为 0-6000 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液，测得水性和脂肪模拟物的线性。

结果与讨论

LOD 和 LOQ

表 2 和表 3 分别列出了使用 UHPLC-MS/MS 和 HPLC-荧光检测器获得的 LOD 和 LOQ 结果。对于水性模拟物，使用 UHPLC-MS/MS 得到的 LOD 要比 HPLC-FL 的 LOD 低 2.6-30 倍，对于相同模拟物，UHPLC-MS/MS 的 LOQ 则比 HPLC-FL 低大约 10 倍。对于脂肪模拟物，UHPLC-MS/MS 得到的 LOD 比 HPLC-FL 得到的低近 5 倍，LOQ 则比 HPLC-FL 得到的低 2.4 倍。

表 2. 使用 UHPLC-MS/MS 测得的 LOD 和 LOQ

模拟物	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
蒸馏水	0.76	4.33
3% w/v 乙酸水溶液	0.20	3.57
50% v/v 乙醇水溶液	0.95	4.41
橄榄油	4.40	95.7

表 3. 使用 HPLC-荧光检测器测得的 LOD 和 LOQ

模拟物	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
蒸馏水	5.4	43.6
3% w/v 乙酸水溶液	6.2	38.5
50% v/v 乙醇水溶液	2.5	34.3
橄榄油	20.7	227.9

回收率

表 4 和表 5 分别列出了使用 UHPLC-MS/MS 和 HPLC-FL 获得的回收率结果。根据 Huber 的报道，浓度在 300-1200 µg/L 的样品，其可接受的回收率范围为 80-110%，对浓度为 90 µg/L 样品，可接受的回收率范围为 60-115% [7]。

表 4. 使用 UHPLC-MS/MS 测得的回收率

模拟物	参比浓度 (µg/L)	实验浓度* (µg/L)	标准偏差	回收率百分比 (40 °C/10 天后)
蒸馏水	90	103	0.01	115
3% w/v 乙酸水溶液		64	0.01	71
50% v/v 乙醇水溶液		101	0.01	112
橄榄油	300	330	0.01	110
蒸馏水	600	601	0.05	100
3% w/v 乙酸水溶液		490	0.04	82
50% v/v 乙醇水溶液		552	0.10	92
橄榄油		544	0.11	91
蒸馏水	1200	1109	0.08	92
3% w/v 乙酸水溶液		992	0.13	83
50% v/v 乙醇水溶液		1233	0.21	103
橄榄油		1124	0.11	94

* 三次测定平均值

表 5. 使用 HPLC-荧光检测器测得的回收率

模拟物	参比浓度 (µg/L)	实验浓度* (µg/L)	标准偏差	回收率百分比 (40 °C/10 天后)
蒸馏水	90	91	0.01	101
3% w/v 乙酸水溶液		74	0.01	82
50% v/v 乙醇水溶液		92	0.01	102
橄榄油	300	300	0.03	100
蒸馏水	600	630	0.02	104
3% w/v 乙酸水溶液		490	0.04	98
50% v/v 乙醇水溶液		530	0.07	88
橄榄油		520	0.12	87
蒸馏水	1200	1070	0.03	89
3% w/v 乙酸水溶液		1136	0.11	95
50% v/v 乙醇水溶液		1059	0.21	88
橄榄油		1125	0.17	94

* 三次测定平均值

线性及校准曲线

使用六个浓度水平的标准溶液研究分析曲线的线性，对于水性模拟物浓度范围为 0-300 $\mu\text{g/L}$ 、300-6000 $\mu\text{g/L}$ ，对于脂肪模拟物则为 0-6000 $\mu\text{g/L}$ 。对 UHPLC-MS/MS 和

HPLC-FL 两个系统得到的 BPA 浓度值进行线性回归，得到的相关系数 (R^2) 均大于 0.996。根据标准方法 CEN/TS 13130-13:2005, R^2 的值需大于 0.99 [5]。图 1 是使用 UHPLC-MS/MS 测得的水性模拟物中 BPA 的校准曲线示例。

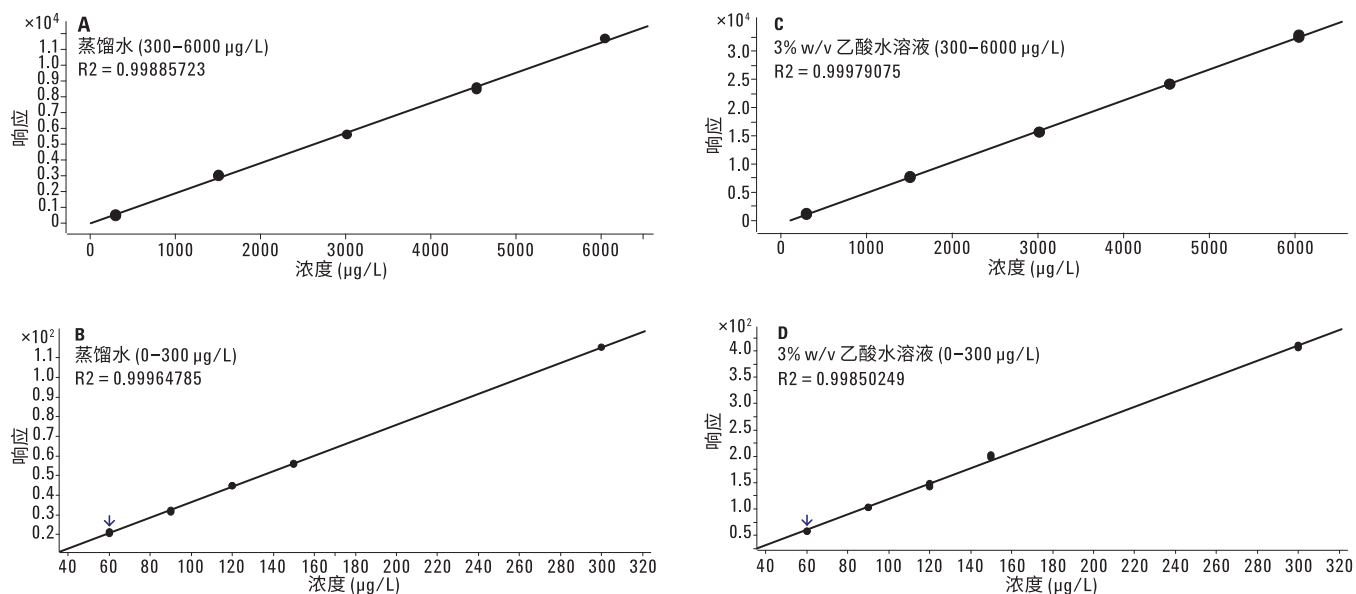


图 1. 双酚 A 校准曲线。A) 蒸馏水模拟物 (300–6000 $\mu\text{g/L}$)；B) 蒸馏水模拟物 (0–300 $\mu\text{g/L}$)；C) 3% w/v 乙酸水溶液模拟物 (300–6000 $\mu\text{g/L}$)；D) 3% w/v 乙酸水溶液模拟物 (0–300 $\mu\text{g/L}$)

表 6 和表 7 汇总了所有模拟物的相关系数 (R^2)。

图 2 是 3% w/v 乙酸水溶液中 600 $\mu\text{g/L}$ 双酚 A 的 MRM 色谱图。

表 6. 使用 UHPLC-MS/MS 测得的相关系数

模拟物	相关系数 (R^2) (0–300 $\mu\text{g/L}$)	相关系数 (R^2) (300–6000 $\mu\text{g/L}$)
蒸馏水	0.999	0.999
3% w/v 乙酸水溶液	0.998	0.999
50% v/v 乙醇水溶液	0.998	0.999
橄榄油		0.999

表 7. 使用 UHPLC-荧光检测器测得的相关系数

模拟物	相关系数 (R^2) (0–300 $\mu\text{g/L}$)	相关系数 (R^2) (300–6000 $\mu\text{g/L}$)
蒸馏水	0.999	0.997
3% w/v 乙酸水溶液	0.991	0.999
50% v/v 乙醇水溶液	0.991	0.999
橄榄油		0.997

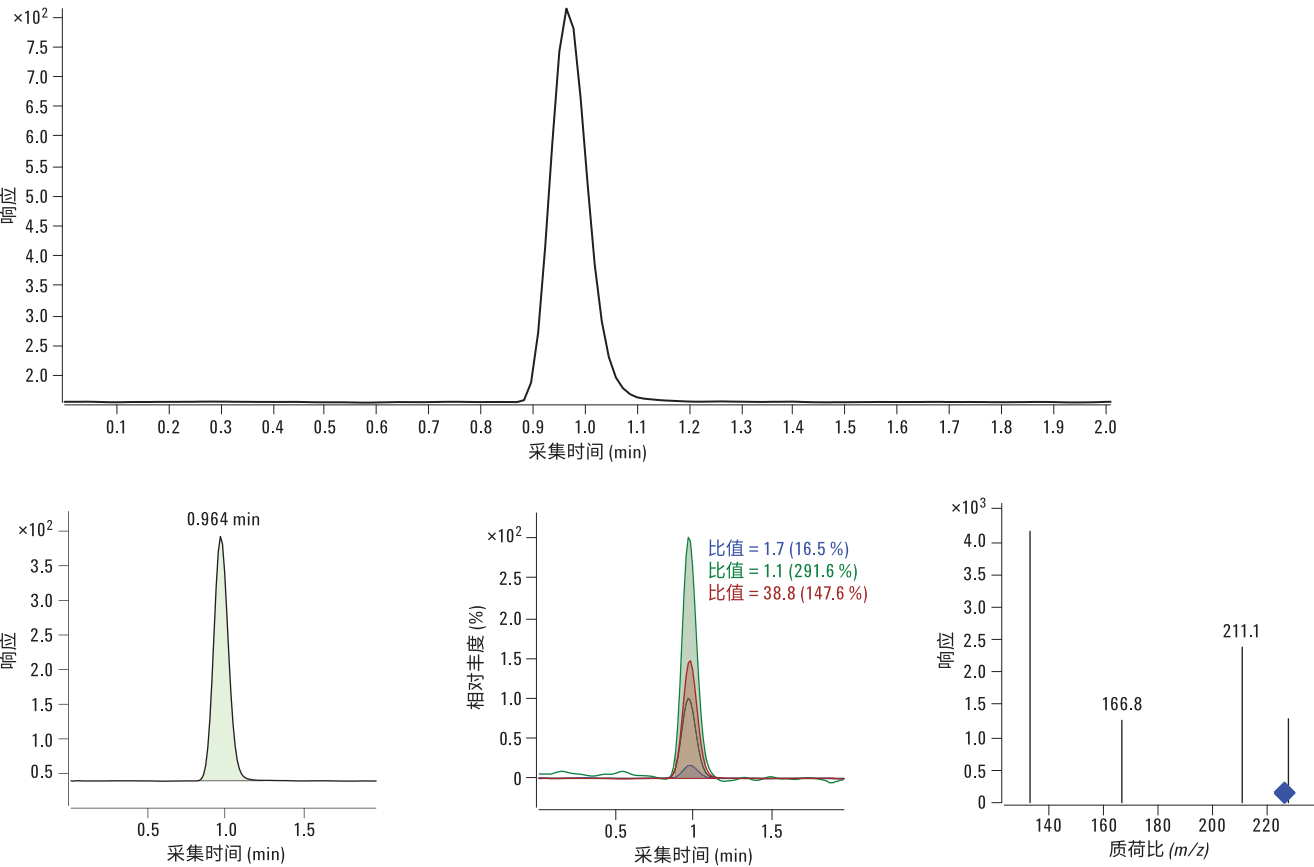


图 2. 3% 乙酸水溶液模拟物中双酚 A 的 UHPLC-MS/MS 色谱图

结论

本文中验证的方法可用于研究塑料材料及清漆中的双酚 A 的特定迁移，这些材料通常用作食品模拟物罐的内表面涂层。使用 UHPLC-MS/MS 方法分析 BPA 需要 2 分钟，而使用带荧光检测器的 HPLC 则需要 7 分钟（水性模拟物）或 12 分钟（脂肪模拟物）。方法的灵敏度也足以满足南方共同市场 [2] 和欧盟法规对 BPA 限值的规定 [1]。本研究使用的方法简单、快速、校准曲线线性良好，BPA 回收率在预期范围内。UHPLC-MS/MS 的特异性及其出色的 LOD 和 LOQ 证明其能够有力支持 BPA 迁移的深入研究以确定消费者暴露量，并帮助健康职能部门监测食品中的 BPA。

参考文献

1. COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. Regulamento (UE) Nº 10/2011, de 14 de Janeiro de 2011. Relativo aos materiais e objectos de matéria plástica destinados a entrar em contacto com os alimentos. Jornal Oficial da União Europeia, Bruxelas, L 12, 15 Jan. 2011.89 p.
2. GRUPO MERCADO COMÚN. Mercosur/GMC/Res. nº 02/12. Regulamento Técnico Mercosul sobre a lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos (Revogação das Res. GMC nº 47/93, 86/93, 13/97, 14/97 e 24/04). Buenos Aires, 19 abril 2012.
3. BRASIL.Ministério da Saúde.Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 56, de 16 de novembro de 2012.Dispõe sobre a lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 21 nov. 2012.Seção 1, p. 66-77.
4. BRASIL.Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 51 de 26 de novembro de 2010.Dispõe sobre migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos.Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 30 nov. 2010.Seção 1, n. 228, p. 105-109.
5. EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION - CEN/TS 13130-13 Materials and articles in contact with foodstuffs - Plastics substance subject to limitation - Part 13: Determination of 2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane (Bisphenol A) in food simulants. February 2005. p. 1-13
6. INMETRO.Coordenação Geral de Acreditação. DOQ-CGCRE-008: orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro, jul. 2011.19 p. Revisão nº 04.
7. HUBER. Ludwig.Validation of analytical methods and procedures. 该参考文献可通过以下网站获取：
<http://www.labcompliance.com/tutorial/methods>.
发布时间：2014 年 3 月 27 日

更多信息

有关我们的产品与服务的详细信息，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。

© Agilent Technologies, Inc. 2014
2014 年 8 月 21 日，中国出版
5991-5037CHCN



Agilent Technologies