

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

张旭龙^{1,2*}, 田延河², 全小盾², 刘俊²

(1. 新疆大学化学化工学院, 乌鲁木齐 830046; 2. 新疆出入境检验检疫局, 乌鲁木齐 830063)

摘要: **目的** 建立了超高压液相色谱-串联质谱法测定马口铁罐内涂层中双酚 A 迁移含量的方法。**方法** 样品经模拟溶液提取后用 C₁₈ 色谱柱分离, UPLC-MS/MS 多反应监测模式下进行定性定量分析, 并对金属制品内涂层双酚 A 在不同食品模拟物环境下的迁移行为进行了研究。**结果** 线性范围为 5.0~100.0 μg/L, 最低检测浓度为 1.0 μg/L, 回收率为 78.6%~86.2%, 相对标准偏差为 7.3%~12.6%。**结论** 双酚 A 迁移水平受模拟物性质影响, 相对于水性模拟物, 在醇溶性模拟物中更易发生迁移。双酚 A 迁移水平随迁移试验温度和接触时间的增加而升高。

关键词: 超高压液相色谱-串联质谱法; 双酚 A; 马口铁罐; 迁移; 测定

Determination of bisphenol A migration from inside coating of tinplate can by ultra pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Xu-Long^{1,2*}, TIAN Yan-He², QUAN Xiao-Dun², LIU Jun²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830046, China; 2. China Xinjiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Urumqi 830063, China)

ABSTRACT: Objective An ultra high pressure liquid chromatography (UHPLC)-mass spectrometry/mass spectrometry (MS/MS) method has been established for determination of bisphenol A (BPA) migration content in coating tinplate tank. **Methods** The different simulation extraction solutions were separated with C₁₈ chromatographic column, and were qualitatively and quantitatively analyzed with UPLC-MS/MS. The migration behavior of free BPA in metal food packaging material in different food simulation solution was studied. **Results** The method linear range was 5.0~100.0 μg/L, the minimum detection concentration was 1.0 μg/L, the recovery was 78.6%~86.2%, and the relative standard deviation was 7.3%~12.6%. **Conclusion** The migration behavior of BPA is affected by the nature of simulation solution properties. Compared with water-based analog, the more migration will curred in alcohol-soluble simulation solution. The migration level of BPA will be increased with increase of temperature and contaction time.

KEY WORDS: ultra high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry; bisphenol A; tinplate cans; migration; determination

基金项目: 国家自然科学基金项目(21147005)、国家质检总局科技计划项目(2009IK199)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (21147005) and the Technical Plan of General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China (2009 IK199)

*通讯作者: 张旭龙, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品包装材料有害物质分析。E-mail: xjciqzxl@sina.com

*Corresponding author: ZHANG Xu-Long, Senior Engineer, Xinjiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No.116, Nanhu North Road, Urumqi 830063, China. E-mail: xjciqzxl@sina.com

1 引言

2,2-双(4-羟基苯基)丙烷(双酚 A)简称 BPA。医学研究报道, BPA 是一种内分泌干扰物质, 它可引起雄性动物性腺发育不全, 影响精子质量, 引起雌性器官功能异常^[1]。双酚 A 一般是作为聚碳酸酯聚合物单体以及环氧树脂的单体应用于食品包装材料中。

由于 BPA 的潜在危害性, 欧盟对食品接触材料中的环氧衍生物进行了严格限定^[2], 其环氧衍生物总量总和不超过 9 $\mu\text{g/g}$ 。双酚 A 用作环氧树脂的单体时, 形成的双酚 A 型环氧酚醛树脂常和酚醛树脂混合使用作为金属食品包装材料的内壁涂层, 双酚 A 可能以单体的形式残留在涂层树脂中, 当马口铁罐与食品接触时, 双酚 A 可能会迁移至食品中对人体造成潜在的危害。

对双酚 A 的检测研究前人已有较多报道, 目前的检测技术大都采用酶联免疫吸附法^[3]、荧光法^[4]、流动注射化学发光法^[5]、气相色谱-质谱联用^[6-8]、极谱法^[9]、液相色谱法^[10]、液相色谱质谱法^[11,12]进行分析检测。其中液相色谱及液相色谱串联质谱法是目前研究工作者常采用的分析手段。Grumetto 等^[13]研究了反相液相色谱法测定罐装去皮番茄中的双酚 A 和双酚 B。Nefina 等^[14]研究报道了固相微萃取-高压液相色谱法测定包装材料中双酚类污染物的迁移。Ackerman 等^[15]采用 HPLC-MS/MS 检测了美国婴儿配方奶粉中的双酚 A。

本文以金属制品食品包装为研究对象, 建立了超高压液相色谱-质谱/质谱联用技术测定金属内涂层中的痕量游离双酚 A 的方法, 同时对金属制品食品包装材料中游离双酚 A 在不同食品模拟物环境下的迁移行为进行了迁移试验。

2 材料与方法

2.1 试剂

双酚 A (纯度 99.8%, 美国 Sigma 公司), 甲醇、乙醇(HPLC 级, Fisher 公司)。

双酚 A 标准储备溶液: 准确称取 0.01 g (精确至 0.1 mg) 双酚 A 标准物质于预先加 50 mL 甲醇的 100 mL 容量瓶中, 混合并用水定容, 再次混合。该溶液为标准溶液储备液, 储备液浓度为 100 mg/L。密封冷藏保存, 保存期 3 个月。

2.2 仪器和设备

超高压液相色谱-串联质谱联用仪(美国 Waters 公司 ACQUITY UPLC-Quattro Premier XE), ESI 电喷雾电离源; C₁₈ 反相色谱柱(美国 Waters 公司); A10 型超纯水仪(美国密理博公司); SW23 恒温水浴振荡器(德国 Julabo 公司); DL150 型强制对流烘箱(德国 BINDER 公司)。

2.3 实验条件

(1) 色谱条件:

流动相: 甲醇:水(7:3, v/v); 流速: 0.2 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 3 μL 。

(2) ESI MS/MS 质谱条件:

电喷雾电离(ESI); 扫描模式: 负离子扫描; 毛细管电压: 3.5 kV; 萃取电压: 3.0 V; 透镜电压: 0.1 V; 洗脱气温度: 350 $^{\circ}\text{C}$; 洗脱气流速: 400 L/hr; 锥孔气流速: 60 L/hr。

2.4 样品处理

金属涂层样片可放置在合适的玻璃容器中, 加入一定量水浸泡液, 浸泡液体按涂层面积每平方米加 2 mL 模拟液体计算, 将玻璃容器密闭, 在水浴 95 $^{\circ}\text{C}$ 下浸泡 30 min, 95%乙醇模拟液在水浴 60 $^{\circ}\text{C}$ 下浸泡 2 h; 欧盟条件试验则在烘箱中 40 $^{\circ}\text{C}$ 下保持 240 h。浸泡液倒入硬质玻璃容器备用。

马口铁罐试样经过处理后加入模拟液体至容器口 0.6~0.7 cm 处, 盖好外盖, 外加锡纸扎紧, 水模拟液体在 95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中浸泡 30 min, 95%乙醇模拟液在 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中浸泡 2 h, 欧盟条件试验则在烘箱中 40 $^{\circ}\text{C}$ 下保持 240 h。浸泡液体倒入硬质玻璃器备用, 所有处理的模拟溶液需要现场处理后尽快测定。

2.5 标准曲线绘制

准确移取 1.00 mL 双酚 A 标准储备液到预先加 50 mL 甲醇的 100 mL 容量瓶中, 混合并用纯水定容, 再次混合, 溶液浓度为 1.00 mg/L, 溶液现配现用。

取 8 个 10 mL 容量瓶, 准确移取 0、0.05、0.20、0.40、0.60、0.80、0.90、1.00 mL 标准溶液, 用水定容并摇匀。溶液过相应 0.2 μm 滤膜待测。

标准溶液按 2.3 色谱条件测定。以峰面积 Y 为纵坐标, 标准品浓度 X ($\mu\text{g/L}$) 为横坐标进行线性回归, 得出标准物质的线性回归方程。根据 3 倍信噪比计算仪器最低检出限为 1 $\mu\text{g/L}$ 。线性范围: 5.0~100.0 $\mu\text{g/L}$,

相关线性系数: 0.9938。

随同试验进行空白试验。

迁移试验试样结果计算可按照式(1)计算迁移试验模拟溶液中游离双酚 A 浓度:

$$X = C \times \frac{V}{S \times 2} \quad (1)$$

式中:

X —— 试样中双酚 A 浓度, 单位为毫克每升 (mg/L);

C —— 从曲线图中获得的浸泡液双酚 A 浓度, 单位为毫克每升 (mg/L);

V —— 浸泡液体积, 单位为毫升 (mL);

S —— 空罐内面总面积, 单位为毫升 (mL);

2 —— 浸泡液添加系数, 单位为毫升每平方厘米 (mL/cm²)。

3 结果与讨论

3.1 超高压液相色谱-质谱/质谱法分析

(1) 流动相选择

本文选用了不同流动相体系, 不同流动相梯度对模拟液进行分离测试, 结果表明: 当选用乙腈/水体系时, 色谱图峰型较差, 响应信号较低, 选用甲醇/水时, 峰型较好, 响应值较高。本文选择甲醇/水作为实验流动相。

采用醋酸铵缓冲盐和甲酸溶液改变流动相 pH 值来考察 pH 值对色谱分离的影响时发现, 加入醋酸铵缓冲盐时, 响应信号下降较为明显, 加入微量甲酸对响应信号影响不明显。

通过优化甲醇:水的比例, 本文选择流动相配比甲醇:水(7:3, v/v), 0.2 mL/min 恒流速为实验流动相。

(2) 质谱条件选择

本文采用流动注射的方式对双酚 A 的质谱条件进行调谐, 优化了质谱毛细管电压、萃取电压、透镜电压、洗脱气温度、洗脱气流速、锥孔气流速。在优

化条件下进行了分子离子峰和子离子峰的调谐, 综合建立的多离子反应监控(MRM)模式的条件, MRM 调谐参数如表 1 所示。

方法检测得到的 MRM 色谱图如图 1 所示。图 2 为双酚 A 标准品二级碎片离子图。图 3 为实际模拟物迁移双酚 A 的二级碎片离子图。

3.2 方法的精密度和回收率

方法回收率实验采用水模拟物作为研究对象, 选择欧盟迁移试验作为实验条件, 选择未检出 BPA 的金属包装材料内涂层做水模拟物的迁移试验回收率, 浓度选择 3 组: 10.00、20.00、30.00 μg/L, 按照水性模拟物欧盟实验方法进行试验, 对每个浓度的 6 次平行试验测定添加回收率, 回收率和精密度实验结果见表 2。

3.3 样品的测定

本文分别对本地企业送检的马口铁罐进行了游离双酚 A 的迁移试验, 实验模拟物分别选择不同性质的模拟物:水和 95%乙醇, 通过不同条件的迁移试验测定马口铁罐内壁环氧酚醛树脂涂层中游离双酚 A 的迁移水平, 结果见表 3。

通过实际测试结果表明: 不同的测试条件, 马口铁罐内壁涂层中的双酚 A 迁移水平各不相同, 采用欧盟标准用水模拟液在 40 °C 下进行迁移试验 10 天, 测试结果基本未检测到有游离双酚 A 迁移。当采用水模拟液体在 95 °C 下试验 30 min 时, 约 62% 的产品可检出游离双酚 A, 含量在 25~326 μg/L 之间, 而用醇溶性模拟溶液时, 参考国标方法^[16]规定, 用 95% 乙醇模拟液在 40 °C 下进行迁移试验 10 天, 测试结果表明: 80% 以上均检出游离双酚 A, 含量范围在 64~32600 μg/L 范围, 而采用 95% 乙醇模拟液在 60 °C 下进行迁移试验 2 h, 结果表明检出率同欧盟醇溶性迁移试验相近, 但含量有所降低, 含量范围在 24.8~27900 μg/L。根据上述实验结果表明: 环氧酚醛树脂涂层中的游离双酚 A 迁移水平受到迁移模拟物、

表 1 双酚 A 的 ESI MS/MS 质谱参数
Table 1 Mass spectrometry parameters of BPA

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间 (s)	锥孔电压 (V)	碰撞电压 (V)
BPA	227	133	0.5	30	25
BPA	227	212	0.5	30	20

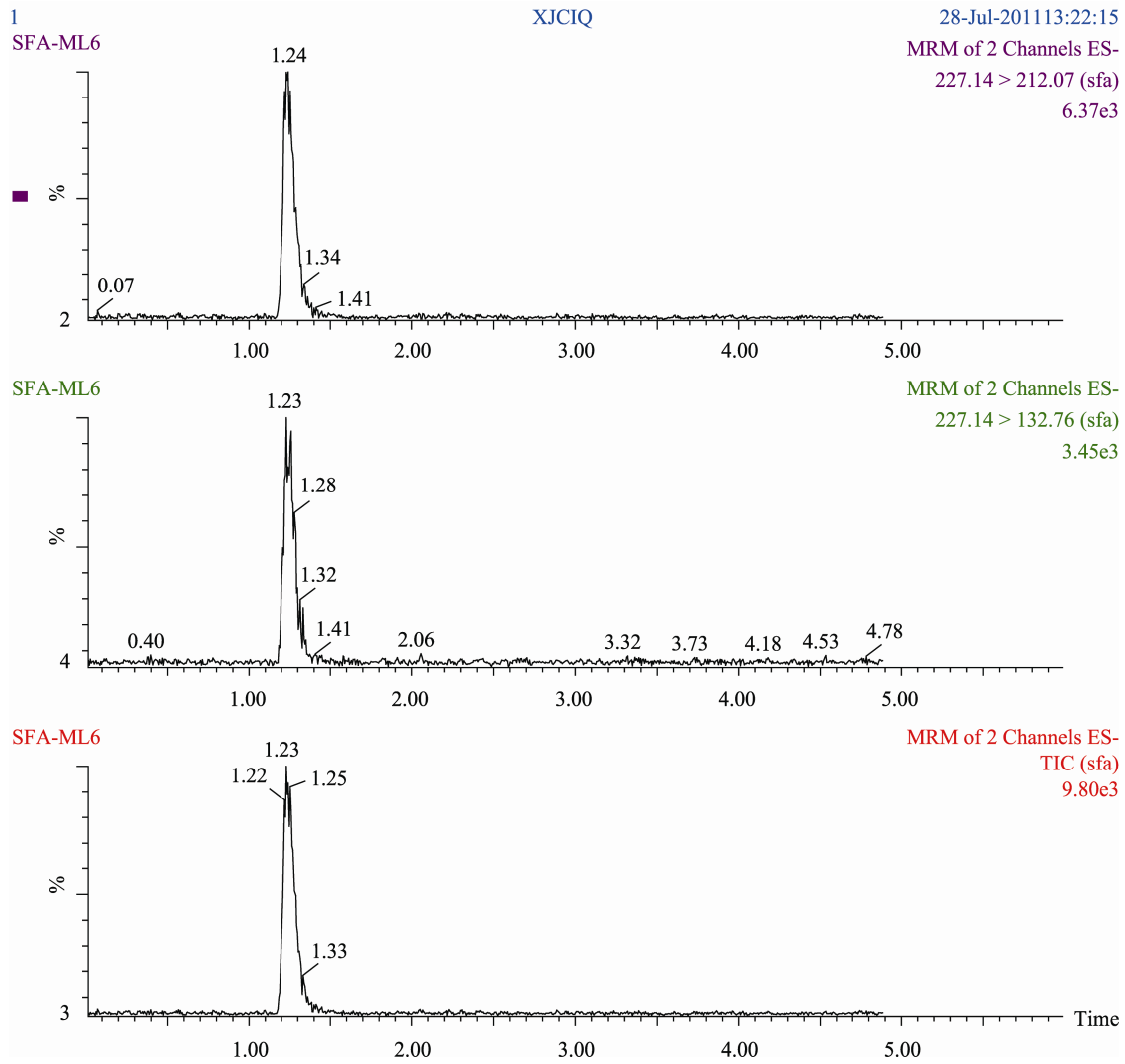


图 1 10.00 µg/L 标准样品的 MRM 图
Fig. 1 Standard curve of MRM (10.00 µg/L)

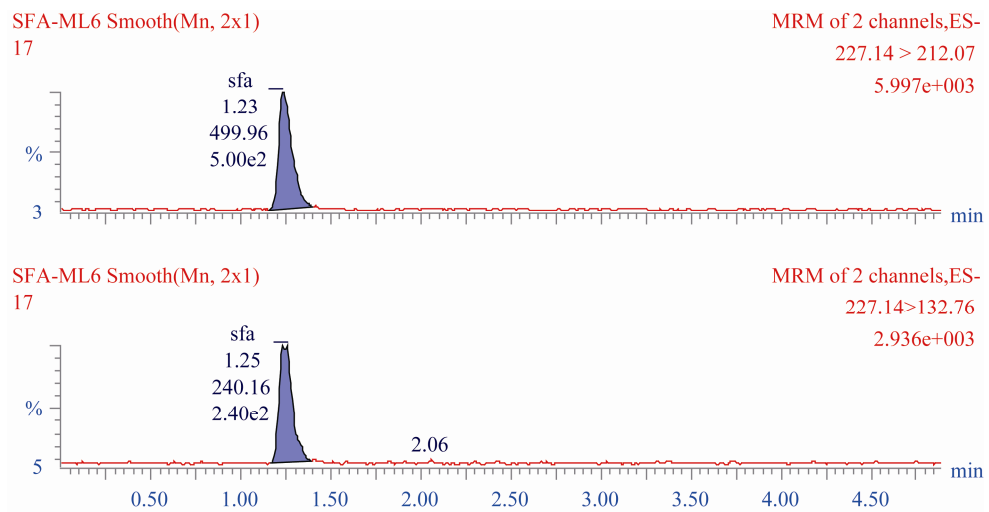


图 2 10.00 µg/L 标准样品二级碎片谱图
Fig. 2 ESI-MS/MS chromatogram of the standard substance (10.00 µg/L)

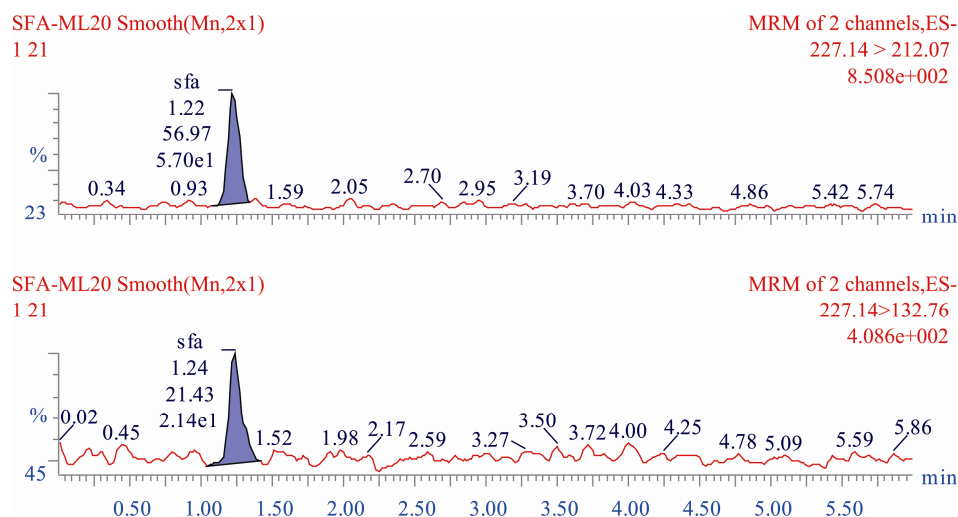


图 3 实际模拟物中迁移双酚 A 二级碎片谱图

Fig. 3 ESI-MS/MS chromatogram of the sample

表 2 BPA 的添加回收率和精密度(n=6)

Table 2 The added recovery rates and RSD of BPA (n=6)

添加量(μg/L)	实际检测量(μg/L)	回收率(%)	RSD (%)
10.00	7.86	78.6	12.6
20.00	17.25	86.2	8.2
30.00	25.76	85.9	7.3

表 3 食品模拟物迁移试验

Table 3 Migration test of the food simulation solution

模拟物	迁移温度(°C)	迁移时间(h)	BPA 检出率(%)	BPA 迁移水平(μg/L)
水	95	0.5	62.3	25~326
水	40	240.0	/	/
95%乙醇	60	2.0	80.0	24.8L~27900
95%乙醇	40	240.0	80.0	64~32600

迁移试验温度、迁移时间等的影响。涂层中的游离双酚 A 在水性模拟物中基本未发生迁移, 但受高温作用下会发生一定迁移, 在醇溶性模拟物中容易发生迁移, 且迁移随接触温度升高迁移水平上升, 随接触时间延长而迁移水平也有所上升。

4 结 论

本文采用超高压液相色谱-质谱/质谱联用技术测定了食品接触金属包装材料内壁环氧酚醛树脂涂层中游离双酚 A 的迁移水平, 方法具有操作简便, 检测限低、灵敏度高、可直接定性定量等优点, 采用本

方法对金属包装材料实际样品进行水性模拟物及醇溶性模拟物接触迁移试验, 实验结果表明: 双酚 A 迁移水平受模拟物性质影响, 在醇溶性模拟物中更易发生迁移, 同时, 双酚 A 迁移水平随迁移试验温度和接触时间的增加而升高。

参考文献

- [1] Bukowska B, Kowalska S. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes [J]. Toxicol Lett, 2004, 152(1): 73-84.
- [2] Commission of the European Communities. Commission Directive 81/432/EEC of 29 April 1981 laying down the Community method

- of analysis for the official control of vinyl chloride released by materials and articles into foodstuffs [J]. OJEU, 1981, 167: 6–11.
- [3] 魏孔吉, 赵美萍, 李元宗, 等. 生物素-亲和素放大酶联免疫吸附法测定双酚 A[J]. 分析化学, 2005, 08: 1122–1124.
Wei KL, Zhao MP, Li YZ, *et al.* Determination of Bisphenol A Based on Biotin-Avidin Enzyme Linked Immunosorbent Assay [J]. Chin J Anal Chem, 2005, 08: 1122–1124.
- [4] 唐舒雅, 庄惠生. 荧光法测定水中双酚 A 残留的研究[J]. 工业水处理, 2006, 03: 74–76.
Tang SY, Zhuang HS. Study on the determination of bisphenol A residues in water by fluorescence method [J]. Ind Water Treat, 2006, 03: 74–76.
- [5] 魏新庭, 杜凌云, 王术皓, 等. 双酚 A 的流动注射化学发光法测定[J]. 分析试验室, 2005, 02: 5–7.
Wei XT, Du LY, Wang SH, *et al.* Determination of bisphenol A in water solvent of polycarbonate materials by flow-injection chemiluminescence assay [J]. Chin J Anal Lab, 2005, 02: 5–7.
- [6] 李向丽, 林里, 邹世春, 等. 衍生化固相微萃取与气相色谱-质谱联用测定生活垃圾渗沥液中双酚 A[J]. 分析化学, 2006, 03: 325–328.
Li XL, Lin L, Zou SC, *et al.* Determination of bisphenol A in landfill leachate by solidphase microextraction with headspace derivatization and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2006, 03: 325–328.
- [7] 陈啟荣, 魏岩, 郎爽, 等. 加速溶剂萃取/气相色谱-质谱法测定糖果包装材料中的双酚 A[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 165–167.
Chen QR, Wei Y, Lang S, *et al.* Accelerated solvent extraction followed by gas chromatography-mass spectrometric determination of bisphenol A in candy packaging materials [J]. Food Sci, 2010, 31(6): 165–167.
- [8] 高永刚, 张艳艳, 高建国, 等. 衍生化气相色谱-质谱法测定玩具和食品接触材料中双酚 A[J]. 色谱, 2012, 30(10): 1017–1020.
Gao YG, Zhang YY, GAO JG, *et al.* Determination of bisphenol A from toys and food contact materials by derivatization and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2012, 30(10): 1017–1020.
- [9] 孙仕萍, 马志东, 张文德. 单扫示波极谱法测定食品包装材料中双酚 A 的研究[J]. 分析科学学报, 2002, 06: 490–492.
Sun SP, Ma ZD, Zhang WD. Determination of bisphenol A in food packaging materials by O scillopolarographic method [J]. Chin J Anal Sci, 2002, 06: 490–492.
- [10] 王晓东, 赵新华, 张新波, 等. 固相萃取-高效液相色谱-荧光检测法同时测定水中的壬基酚和双酚 A[J]. 分析试验室, 2006, 09: 27–29.
Wang XD, Zhao XH, Zhang XB, *et al.* Simultaneous determination of nonylphenol and biphenol A in water by solid-phase extraction-high performance liquid chromatography-fluorescence detector [J]. Chin J Anal Lab, 2006, 09: 27–29.
- [11] 王浩, 杨红梅, 刘艳琴, 等. 固相萃取-液相色谱-串联质谱法检测化妆品中的双酚 A 残留[J]. 分析试验室, 2012, 31(2): 67–70.
Wang H, Yang HM, Liu YQ. Determination of bisphenol A residues in cosmetics by solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2012, 31(2): 67–70.
- [12] 马强, 白桦, 王超, 等. 纺织品与食品包装材料中烷基酚及双酚 A 迁移量的液相色谱-串联质谱分析[J]. 分析测试学报, 2009, 28(12): 1415–1418.
Ma Q, Bai H, Wang C, *et al.* Analysis of alkylphenols and bisphenol A migration from textiles and food packaging materials by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Instrum Anal, 2009, 28(12): 1415–1418.
- [13] Grumetto L, Montesano D, Seccia S, *et al.* Determination of Bisphenol A and Bisphenol B Residues in Canned Peeled Tomatoes by Reversed-Phase Liquid Chromatography [J]. J Agr Food Chem, 2008, 56(22): 10633–10637.
- [14] Nefina C, Philob MR, Salafranca J, *et al.* Determination of bisphenol-type contaminants from food packaging materials in aqueous foods by solid-phase microextraction-highperformance liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 2002, 963(1/2): 375–380.
- [15] Ackerman LK, Noonan GO, Heiserman WM, *et al.* Determination of Bisphenol A in U.S. Infant Formulas: Updated Methods and Concentrations [J]. J Agr Food Chem, 2010, 58(4): 2307–2313.
- [16] GB/T 23296.1-2009 食品接触材料 塑料中受限制物质 塑料中物质向食品及食品模拟物特定迁移试验和含量测定方法及食品模拟物暴露条件选择的指南[S].
GB/T 23296.1-2009 Materials and articles in contact with foodstuffs-plastics substances subject to limitation-guide to test methods for the specific migration of substances from plastics to foods and food simulants and the determination of substances in plastics and the selection of conditions of exposure to food simulants [S].

(责任编辑: 赵静)

作者简介



张旭龙, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品包装材料有害物质分析。
E-mail: xjcqzxl@sina.com