

高效液相色谱-串联质谱法测定食品接触材料中双酚 S 的迁移量

左 莹*, 吕 庆, 罗 婵, 韩 陈

(上海市质量监督检验技术研究院, 上海 201114)

摘 要: 目的 建立高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)测定食品接触材料中双酚 S 的迁移量的分析方法。**方法** 样品经水、4%乙酸、20%乙醇模拟物迁移后, 过滤; 玉米油油基模拟物迁移后, 经甲醇/水(1:1, V/V)液-液萃取, 过滤后, 采用高效液相色谱-串联质谱在多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式下检测, 基质匹配标准曲线外标法定量。**结果** 双酚 S 在 3.0 ~ 80 $\mu\text{g/kg}$ 范围内呈良好线性关系, 相关系数(r^2)大于 0.9990; 检出限(3S/N)为 0.5 $\mu\text{g/kg}$; 按标准加入法进行回收实验, 加标回收率在 81.2% ~ 103.8%, 相对标准偏差($n=6$)均小于 5.0%。**结论** 该方法准确, 灵敏度高, 可为双酚 S 检测方法制定提供相应的科学依据和技术支撑。

关键词: 液相色谱-串联质谱法; 食品接触材料; 双酚 S

Determination of bisphenol S migration in food contact materials by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZUO Ying*, LV Qing, LUO Chan, HAN Chen

(Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 201114, China)

ABSTRACT: Objective To establish an effective method for the determination of bisphenol S migration in food contact materials by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The aquatic food simulants, such as water, 4% acetic acid, 20% ethanol, were migrated and filtered, and oil food stimulants, such as corn oil were extracted with the mixed solution of methanol/water (1:1,V/V), then detected by HPLC-MS/MS in multiple reaction monitoring mode (MRM) after filtering. **Results** Bisphenol S had good linear relationship within the range of 3.0–80 $\mu\text{g/kg}$, with correlation coefficients (r^2) more than 0.9990. The limits of detection ($S/N=3$) was 0.5 $\mu\text{g/kg}$. The recoveries were 81.2%–103.8% and the relative standard deviations (RSDs, $n=6$) were all less than 5.0%. **Conclusion** The method is accurate and sensitive, which can provide scientific basis and technical support for the determination of bisphenol S.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; food contact material; biophenol S

*通讯作者: 左莹, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为轻工产品有害物质化学检测。E-mail: zuoying@sqi.org.cn

*Corresponding author: ZUO Ying, Master, Senior Engineer, Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 201114, China. E-mail: zuoying@sqi.org.cn

1 引 言

4,4'-二羟基二苯砒(双酚 S)与双酚 A 结构相似, 是双酚 A 分子结构中的丙烷基被砒基取代而得到的衍生物, 由于引入了砒基极性基团, 双酚 S 比双酚 A 具有更好的化学稳定性, 近年作为生产聚碳酸酯、聚酯树脂、聚砒和聚醚砒以及双酚 S 环氧树脂(双酚 S 二缩水甘油醚)的工业原料, 被广泛用于禁止或限制双酚 A 使用的日常用具的制造, 是目前最受关注且最具有争议的双酚 A 替代物^[1,2]。目前, 双酚 S 在市场上主要被应用于替代双酚 A 环氧树脂用于罐头、不粘锅等食品接触涂层制品的生产。国内外双酚 S 毒理学研究认为: 双酚 S 具有与双酚 A 相类似的基因毒性^[3]、生殖发育毒性^[4-7]和内分泌干扰效应^[8], 除此之外, 双酚 S 还会引起淋巴细胞的增值, 多动症及脂肪蓄积和肥胖的发生^[9,10], 且研究认为双酚 S 在环境中比双酚 A 具有更强的持久性^[11]。

当前对于食品接触材料中双酚 S 迁移量的测定研究较少, 为了适应科学技术发展的要求、保障人身健康和安全, 本研究建立了高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)测定食品接触材料中双酚 S 的迁移量, 以期对开发食品接触材料中双酚 S 迁移含量的检测方法提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Agilent 1260-6460 液相色谱-三重四级杆串联质谱(配 ESI 源, 美国 Agilent 公司); XW-80A 型涡旋混合器(上海长哲生物科技有限公司); ML204 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); 0.45 μm 针式滤膜过滤器(江苏绿盟科学仪器有限公司)。

正己烷、甲醇、乙腈、乙酸铵(色谱纯, 国药集团); 实验用水为超纯水(美国密理博公司); 4,4'-磺酰基二苯酚(双酚 S, 纯度 $\geq 98\%$)、乙酸铵溶液(10 mmol/L)(国药集团): 准确称取 0.77 g 乙酸铵, 用水溶解后, 定容至 1000 mL, 备用。

甲醇-水(1:1, V:V): 量取 100 mL 甲醇和 100 mL 水, 混匀。

玉米油: 当地市场购买。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

取迁移实验中得到的 4%乙酸、20%乙醇食品模拟试液约 1 mL, 通过 0.45 μm 针式滤膜过滤器过滤后供测定。

玉米油食品模拟试液: 分别称取 1 g(精确至 0.01 g)食品模拟试液或异辛烷化学溶剂, 加入 3 mL 正己烷, 混匀, 加入 2 mL 甲醇-水混合液(1:1, V:V), 涡旋振荡 2 min, 静置分层。吸取下层水溶液, 用 0.45 μm 针式滤膜过滤器过滤后供测定用。

2.2.2 样品前处理

色谱条件: 色谱柱: EC-C18 (3.0 mm 100 mm, 2.7 μm); 流动相: 乙腈:乙酸铵(10 mmol/L)=45:55(V:V); 流速: 0.4 mL/min; 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 5 μL 。

质谱条件: 离子化模式: 负离子电喷雾电离模式(electron spray ionization, ESI-); 质谱扫描方式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 雾化气压力: 0.310 MPa; 喷雾电压: 500 V; 毛细管电压: 4000 V; 气流速度: 7 L/min; 气流温度: 350 $^{\circ}\text{C}$; 鞘气(N_2)流速: 11 L/min; 鞘气(N_2)温度: 325 $^{\circ}\text{C}$ 。双酚 S 的保留时间和 MRM 参数具体见表 1。

3 结果与分析

3.1 色谱柱的选择

双酚 S 是一种极性化合物, 由于磺酰基的存在, 其化合物极性略大于双酚 A, 在液相色谱中使用 C_{18} 柱可进行分离, 分别选择 3 款不同种类的 C_{18} 柱: Extend- C_{18} (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μm)、SB- C_{18} (2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μm)、EC- C_{18} (3.0 mm $\times$ 100 mm, 2.7 μm)分离不同基质下浓度为 0.05 mg/L 双酚 S 标准溶液, 实验结果发现: 所选 3 种不同种类的 C_{18} 柱对双酚 S 均有一定的保留, 且双酚 S 峰形良好, 色谱分离中也未发现相应的干扰峰。实验中选择 EC- C_{18} (3.0 mm $\times$ 100 mm, 2.7 μm)作为实验用色谱柱。

表 1 双酚 S 的保留时间和 MRM 参数
Table 1 Retention time and MRM parameters of bisphenol S

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	驻留时间/ms	碎裂电压/V	碰撞能量/eV
4,4'-磺酰基二苯酚 (双酚 S)	249.0	108.0(定量离子)	200	146	-19
	249.0	92.0	200	92	-32

3.2 流动相的选择

实验对比了双酚 S 在 2 种流动相体系下的峰形的不同。使用甲醇-水作为流动相体系分析浓度为 0.05 mg/L 不同基质下双酚 S 标准溶液的峰形。结果表明: 乙腈-水体系在分离 4%乙酸、水、20%乙醇以及玉米油模拟物萃取液时均呈现更好的峰形, 故选择乙腈-水体系作为流动相。

在液相色谱串联四极杆质谱仪流动相体系中添加乙酸铵可以提高负离子模式下的离子化效率。实验中, 分别使用乙腈-水和乙腈-10 mmol/L 乙酸铵缓冲溶液作为流动相, 对双酚 S 标准溶液进行对比分析(见图 1~4), 实验发现: 乙酸铵缓冲溶液的加入除了可以改善峰形之外, 可以提高双酚 S 离子化效率。所以实验中选择乙腈-10 mmol/L 乙酸铵缓冲溶液作为流动相。

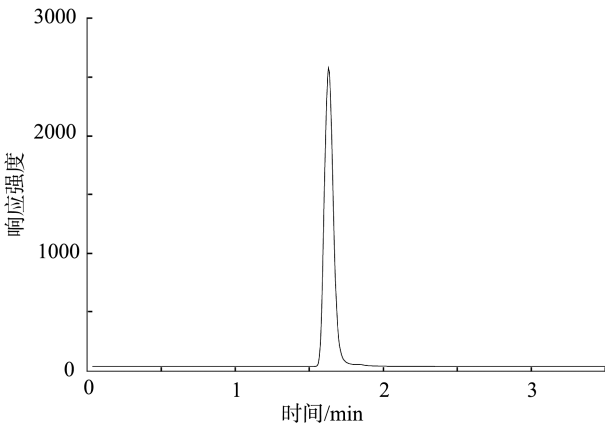


图 1 水模拟物中的双酚 S MRM 色谱图

Fig.1 MRM chromatogram of bisphenol S in water simulant

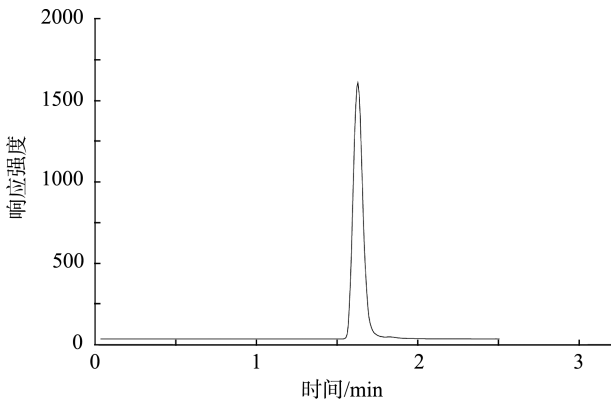


图 2 20%模拟物乙醇中的双酚 S MRM 色谱图

Fig.2 MRM chromatogram of bisphenol s in 20% ethanol

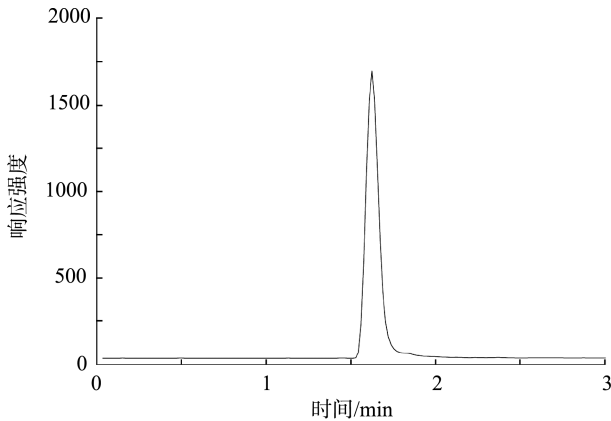


图 3 玉米油模拟物中的双酚 S MRM 色谱图

Fig.3 MRM chromatogram of bisphenol S in corn oil

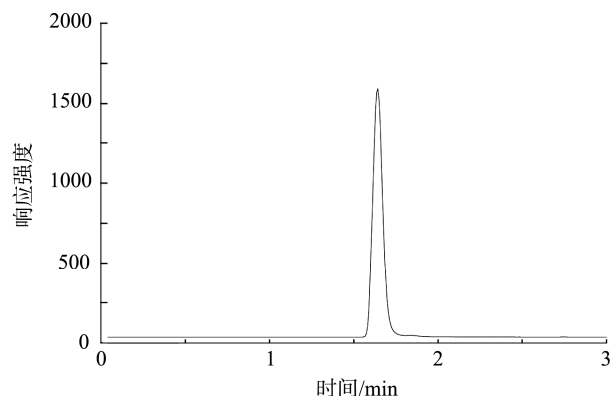


图 4 4%模拟物乙醇中的双酚 S MRM 色谱图

Fig.4 MRM chromatogram of bisphenol S in 4% ethanol

3.3 油脂类模拟物萃取条件的优化

双酚 S 是一种极性化合物,易溶于甲醇,油脂模拟物中的双酚 S 可以使用甲醇和水的混合溶液进行液液萃取。实验过程中对正己烷加入量、甲醇水混合液的浓度配比、甲醇水混合液的加入量、涡旋振荡时间、静置分层时间等参数进行优化中发现,涡旋振荡时间、静置分层时间对实验结果影响很小,所选择的涡旋振荡时间,只需满足正己烷相(油脂层)和水相混合完全即可,实验发现:涡旋振荡 2 min 后正己烷相(油脂层)和水相混合完全。当加入正己烷的量以及加入甲醇-水混合液的量过少,或者甲醇-水混合液中甲醇体积占比少于 1:1 时,经涡旋振荡后,水相和正己烷相中间易产生乳化层,导致目标萃取物双酚 S 部分留在乳化层萃取不完全。参照 GB 31604-10-2016《食品安全国家标准 食品接触材料及制品 2,2-二(4-羟基苯基)丙烷(双酚 A)迁移量的测定》^[12]油脂萃方法,使用正己烷和甲醇-水混合液(1:1, V:V)体系进行液-液萃取,水相和正己烷相两相分层清晰明显,无乳化现象,样品溶液进样后,在双酚 S 出峰处附近未发现干扰色谱峰,萃取效率可达 85%,配制基质匹配标准曲线可消除基质效应并抵消回收率对结果造成的影响。

3.4 线性关系、线性范围、检出限

使用各类食品模拟物配制成浓度为 3.0 ~ 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的基质匹配双酚 S 标准溶液,油脂类食品模拟物基质的标准溶液按照 2.3 实验步骤进行前处理后进行仪器测试。其标准线性不小于 0.9990。并对 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 标准溶液重复进样 6 次,计算标样的准确度,其准确度值小于 1.0%。按照 3 倍信噪比($S/N=3$)计算检出限,按照检出限的浓度配制各类食

品模拟物基质的标准溶液,进行前处理和仪器测试。实验结果表明:表 2 中所给出的各样品基质中 4,4-磺酰基二苯酚(双酚 S)的检出限和定量限均能满足 3 倍信噪比的检测要求。

3.5 方法精密度及回收率

在不同的食品模拟物中加入相应浓度的 4,4-磺酰基二苯酚(双酚 S)标准物质,并按照实验方法进行前处理后,于液相色谱串联质谱测定其浓度。并对加标结果进行 6 次平行测定,计算 RSD 值实验结果表明:双酚 S 加标回收率在 81.2% ~ 103.8%之间, RSD 值在 1.10% ~ 4.21%之间,满足检测要求,实验检测结果如表 3 所示。

3.6 实际样品分析

选择涂层内胆样品 16 批次,塑料水杯水壶 9 批次、特制阳性 PE 薄膜样品进行双酚 S 的检测,其中特制阳性 PE 薄膜样品和 1 批次电饭煲涂层内胆检测含有双酚 S,其余样品均未检出双酚 S。测定结果见表 4。

4 结 论

本研究建立液相色谱串联质谱法测定食品接触材料中双酚 S 迁移量的检测方法。通过优化色谱、质谱条件、油脂食品模拟物萃取方法等前处理条件进行优化,确定最佳的实验条件,双酚 S 在 3.0 ~ 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内呈良好线性关系,检出限($3S/N$)为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 加标回收率在 81.2% ~ 103.8%,相对标准偏差($n=6$)均小于 5.0%。线性关系、回收率、精密度等技术指标的考察研究表明,本方法准确,灵敏度高,可为双酚 S 检测方法制定提供相应的科学依据和技术支撑。

表 2 不同基质条件下的线性方程、相关系数和线性范围(n=6)
Table 2 Linear equations, correlation coefficients and linear ranges under different matrix conditions (n=6)

验证基质	线性方程	线性范围/(μg/kg)	线性相关系数 r^2	准确度/%	检出限/(μg/kg)
水	$Y=160.1X+208.6$	3.0 ~ 80	0.9995	0.46	0.5
4%乙酸	$Y=152.4X+187.4$	3.0 ~ 80	0.9990	0.53	0.5
20%乙醇	$Y=162.3X+60.9$	3.0 ~ 80	0.9997	0.91	0.5
玉米油	$Y=148.8X+200.9$	3.0 ~ 80	0.9994	0.74	0.5

表 3 回收率实验结果(n=6)
Table 3 Results of recovery experiment(n=6)

验证基质	平均回收率/%	RSD/%
水	83.4, 101.5, 100.2	2.24, 1.35, 1.43
4%乙酸	81.2, 97.8, 97.3	3.21, 2.23, 1.39
20%乙醇	91.7, 103.0, 100.8	4.03, 2.92, 1.10
玉米油	85.7, 103.8, 103.1	3.64, 2.36, 4.21

表 4 双酚 S 阳性样品测定结果
Table 4 Determination results of bisphenol s positive samples

样品名称	模拟物	迁移条件	迁移次数	迁移量
电饭煲涂层内胆	4%乙酸	100 °C, 2 h	3 次	2.1 μg/kg
	玉米油	100 °C, 2 h	3 次	1.1 μg/kg
特制阳性 PE 薄膜	4%乙酸	70 °C, 2 h	1 次	38.1 mg/kg
	玉米油	70 °C, 2 h	1 次	26.7 mg/kg

参考文献

[1] Soria E, Tiphany G, Delphine M, *et al.* Bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound [J]. *Fertil Steril*, 2015, 103(1): 12–20.

[2] Cécile HT, Ludovic P, Claudia C, *et al.* Is bisphenol S a safe substitute for bisphenol A in terms of metabolic function? An *in vitro* study [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 280: 224–235.

[3] 杨蕴嘉, 尹杰, 邵兵. 双酚 A 替代物-双酚 S 的研究进展[J]. *首都公共卫生*, 2016, 10(5): 222–224.

[4] Fic A, Zegura B, Sollner DM, *et al.* Mutagenicity and DNA damage of bisphenol A and its structural analogues in HepG2 cells [J]. *Arh Hig Rada Toksikol*, 2013, 64(2): 189–200.

[5] Naderi M, Wong MY, Gholami F. Developmental exposure of zebrafish(Danio rerio)to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults [J]. *Aquat Toxicol*, 2014, 148: 195–203.

[6] Fic A, Zegura B, Sollner DM, *et al.* Mutagenicity and DNA damage of bisphenol A and its structural analogues in HepG2 cells [J]. *Arh Hig Rada Toksikol*, 2013, 64(2): 189–200.

[7] Ullah H, Jahan S, Ain QU, *et al.* Effect of hisphenol S exposure on male reproductive system of rats: A histological and biochemical study [J].

Yang YJ, Yin J, Shao B. Research progress of bisphenol A substitute bisphenol S [J]. *Capit Pub Health*, 2016, 10(5): 222–224.

- Chemosphere, 2016, 152: 383–391.
- [8] Rochester JR, Bolden AL. Bisphenol S and F: A Systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes [J]. Environ Health Perspect, 2015, 123(7): 643–650.
- [9] Del ML, Le CL, Helene P, *et al.* Obesogen effects after perinatal exposure of 4,4'-sulfonyldiphenol (Bisphenol S) in C57BL/6 mice [J]. Toxicology, 2016, 357: 11–20.
- [10] Boucher JG, Ahmed S, Atlas E. Bisphenol S induces adipogenesis in primary human preadipocytes from female donors [J]. Endocrinology, 2016, 157(4): 1397–1407.
- [11] Trasande L. Exploring regrettable substitution: Replacements for bisphenol A [J]. Lancet Planetary Health, 2017, 1(3): 88–89.
- [12] GB 31604-10-2016 食品安全国家标准 食品接触材料及制品 2,2-(4-羟基苯基)丙烷(双酚 A)迁移量的测定[S].
- GB 31604-10-2016 National food safety standard-Food contact materials and products-Determination of migration of 2,2-bis (4-hydroxyphenyl) propane (bisphenol A) [S].
- (责任编辑: 于梦娇)

作者简介



左 莹, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为轻工产品有害物质化学检测。
E-mail: zuoying@sqi.org.cn