液相色谱-串联质谱法测定金属罐中三(壬基酚)亚磷酸酯的迁移量

李灿明, 柏建国*

(奥瑞金科技股份有限公司, 北京 101407)

摘 要: 目的 建立液相色谱-串联质谱法检测金属罐中三(壬基酚)亚磷酸酯迁移量的分析方法。**方法** 金属罐经水、4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇、50%乙醇等食品模拟物迁移后, 过滤, 采用大气压化学电离(atmosphere pressure chemical ionization, APCI)和多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)进行检测, 外标法定量。**结果** 三(壬基酚)亚磷酸酯在 10~500 μg/L 范围内呈现良好的线性关系, 相关系数不低于 0.9997, 检出限为 0.005 mg/L, 测定结果的相对标准偏差不大于 5%(n=6), 加标回收率为 94.20%~106.40%。**结论** 该方法准确、精密度好, 可用于金属罐中三(壬基酚)亚磷酸酯迁移量的快速检测。

关键词: 液相色谱-串联质谱法; 金属包装; 三(壬基酚)亚磷酸酯; 迁移量

Determination of migration of tris (nonylphenyl) phosphite from metal cans by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LI Can-Ming, BAI Jian-Guo*

(*ORG Technology Co*., *Ltd*., *Beijing* 101407, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of migration of tris (nonylphenyl) phosphite from metal cans by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** The metal cans were migrated in food simulants, such as water, 4% acetic acid, 10% ethanol, 20% ethanol, 50% ethanol. Then the food simulants were detected by atmosphere pressure chemical ionization (APCI) using multiple reaction monitoring (MRM) after filtering, and quantified by external standard method. **Results** The calibration curve of tris (nonylphenyl) phosphite had good linearity in the range of 10–500 μg/L, with correlation coefficients not less than 0.9997. The detection limit of tris (nonylphenyl) phosphite was 0.005 mg/L. The relative standard deviation was less than 5% (n=6), and the recoveries ranged from 94.20% to 106.40%. **Conclusion** This method is accurate and precise, and can be used to determine the migration of tris (nonylphenyl) phosphite from metal cans rapidly.

KEY WORDS: liquid chromatography-tandem mass spectrometry; metal packaging; tris(nonylphenyl)phosphite; migration

0 引 言

壬基酚是一种内分泌干扰物, 可以和雌性激素受体结合, 扰乱生物内分泌系统, 对子代生殖及免疫系统有不利影响, 对人类具有潜在的危害[1−2]。鉴于此, GB 9685—2016《食品安全国家标准 食品接触材料及制品用添加剂使用标准》中规定了壬基酚的迁移限量为不得检出(not detected, ND)[检出限(detection limit, DL) = 0.01 mg/kg)]。

*通信作者: 柏建国, 博士, 主要研究方向为金属包装有害物迁移。E-mail: bjg@orgpackaging.com

*Corresponding author: BAI Jian-Guo, Ph.D, ORG Technology Co., Ltd., Beijing 101407, China. E-mail: bjg@orgpackaging.com

三(壬基酚)亚磷酸酯[tris(nonylphenyl)phosphite, TNPP], 是壬基酚的主要前体物质, 主要作为抗氧剂和热稳定剂, 可用于多种聚合物聚乙烯(polyethylene, PE)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)和聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)的合成, 广泛应用于塑料类和金属涂层类食品接触材料。由于该类食品接触材料中残留的 TNPP 与食品接触时有可能迁移至食品中, 并且 TNPP 容易分解生成壬基酚单体, 从而危害人体健康。因此在食品包装材料的食品安全研究中, 对 TNPP 迁移量进行定量分析是非常有必要的。

目前关于 TNPP 检测方法的报道并不多见。只有专利申请 CN108398497A[3]中公开了一种 TNPP 的高效液相色谱检测方法, 但其具有以下技术缺陷: (1)检出限为 0.4 ~ 0.6 mg/L, 灵敏度不够; (2)分析时间需要 18 min, 不能满足快速检测需求; (3)需要进行柱前衍生化, 前处理操作过于复杂。因此从壬基酚的检测方法中寻找建立合适的 TNPP 检测方法很重要。

目前关于壬基酚检测方法的报道较多, 主要有气相色谱法[4–5]、液相色谱法[6–12]和液相色谱-质谱联用法[13–20]。液相色谱-质谱联用法采用多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM)分析, 检出限更低, 前处理相对更加简单。本研究参考壬基酚检测方法, 以期建立一种专门针对 TNPP 的液相色谱-串联质谱检测方法, 其应具备灵敏度高(检出限小于或等于 0.01 mg/kg)和前处理简单的优势, 从而实现金属包装中 TNPP 迁移量的快速、准确检测。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

金属罐: 公司自制。

三(壬基酚)亚磷酸酯(美国 Accustandard 公司); 甲醇(质谱纯)、丙酮(色谱纯)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 冰乙酸、无水乙醇(分析纯, 北京化工厂)。

1.2　仪器与设备

Agilent 1290 液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); AB Sciex API 4000 质谱仪(美国 AB Sciex 公司); AL204 型电子天平[感量 0.0001 g, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; Milli-Q 型超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　溶液配制

标准储备液: 称取 100 mg(精确至 0.1 mg)三(壬基酚)亚磷酸酯标准品于 50 mL 烧杯中, 用丙酮溶解并转移至 100 mL 容量瓶中, 用丙酮定容至标线。

标准中间溶液: 移取 1 mL 标准储备液于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至标线, 得到质量浓度为 10 mg/L 的标准中间溶液。

标准工作溶液: 用水将标准中间溶液逐级稀释, 得到质量浓度分别为 10、50、100、200、500 μg/L 的系列标准工作溶液。采用同样方式, 分别用 4%乙酸溶液、10%乙醇溶液、20%乙醇溶液和 50%乙醇溶液配制相同质量浓度的系列标准工作溶液。

1.3.2　样品前处理

按 GB 31604.1—2015《食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验通则》和 GB 5009.156—2016《食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验预处理方法通则》的要求, 在金属罐中加入适量的食品模拟物, 于 121 ℃处理 30 min 后, 再 60 ℃保温 10 d 进行迁移实验。将迁移实验得到的食品模拟物进行 0.2 μm 滤膜过滤, 供液相色谱-串联质谱进样。

1.3.3　仪器条件

(1)液相色谱条件

色谱柱: ZORBAX SB-C_8柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 进样体积: 5 μL; 柱箱温度: 50 ℃; 流动相: 水-甲醇, 梯度洗脱程序见表 1。

表 1　梯度洗脱程序
Table 1　Gradient elution program

时间/min	流量/(mL/min)	流动相体积分数/%	
		水	甲醇
0	0.3	40	60
1.5	0.3	0	100
5.5	0.3	0	100
6.0	0.3	40	60
8.0	0.3	40	60

(2)质谱条件

气帘气: 20 psi; 喷雾气: 40 psi; 碰撞气: 4 psi; 辅助加热温度: 400 ℃; 放电电流: 3 μA; 其他质谱条件见表 2。

2　结果与分析

2.1　食品模拟物和迁移条件的选择

参考 GB 31604.1—2015《食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验通则》, 结合我司金属罐内容物的特性, 分别用水、4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇和 50%乙醇作为本研究的食品模拟物。迁移条件应依据金属罐实际使用中或预期与食品内容物的接触条件进行从严选择, 最终确定本研究迁移实验条件为: 121 ℃处理 30 min 后再 60 ℃保温 10 d。

表 2 三(壬基酚)亚磷酸酯质谱参数

Table 2 Mass spectrometry parameters of tris(nonylphenyl)phosphite

化合物	电离模式	母离子 (*m*/*z*)	子离子 (*m*/*z*)	去簇电压/V	碰撞能量/V
TNPP	APCI$^+$	689.5	469.6*	100	54
		689.5	343.4	100	62
		689.5	235.1	100	66
		689.5	71.1	100	75

注: *为定量离子; APCI$^+$为大气压化学电离正离子模式。

2.2 质谱条件优化

将三(壬基酚)亚磷酸酯标准品配制成 100 μg/L 的标准溶液，作为质谱条件优化的标准溶液。使用三通分别连接液相色谱、针泵进样器和质谱。液相色谱不接色谱柱，流动相为 50%甲醇水溶液，流量为 0.3 mL/min，针泵进样器装载 100 μg/L 的标准溶液，流量为 10 μL/min，液相色谱流动相和针泵进样器两路混合进入质谱进行质谱条件优化。首先在 APCI 正离子模式下进行全扫描，以确定其分子离子，将分子离子作为母离子，对其进行逐级碰撞能量的二级离子全扫描，选取丰度较强的 2~4 个离子作为子离子，并将其中丰度最强干扰较小的子离子作为定量离子。随后将母离子的去簇电压和各离子对的碰撞能量进行逐一优化，优化后的质谱参数详见表 2。

2.3 液相色谱条件优化

在前期方法建立过程中，选择实验室常用的 C_{18} 柱作为色谱柱，选择 100%甲醇作为流动相，发现即使洗脱 0.5 h 都未出现色谱峰，可能是由于三(壬基酚)亚磷酸酯极性太弱，在 C_{18} 柱中保留太强引起的。故而选择 C_8 柱作为备选色谱柱，以水-甲醇作为流动相体系对其洗脱程序进行优化，最终的洗脱程序见表 1。该条件下的标准品色谱图和质谱图见图 1、2。

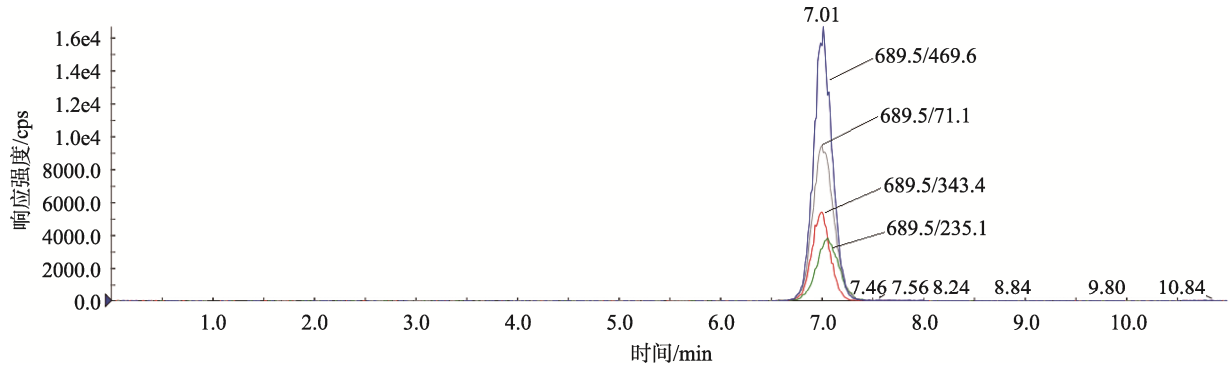

图 1 三(壬基酚)亚磷酸酯标准色谱图

Fig.1 Standard chromatogram of tris(nonylphenyl)phosphite

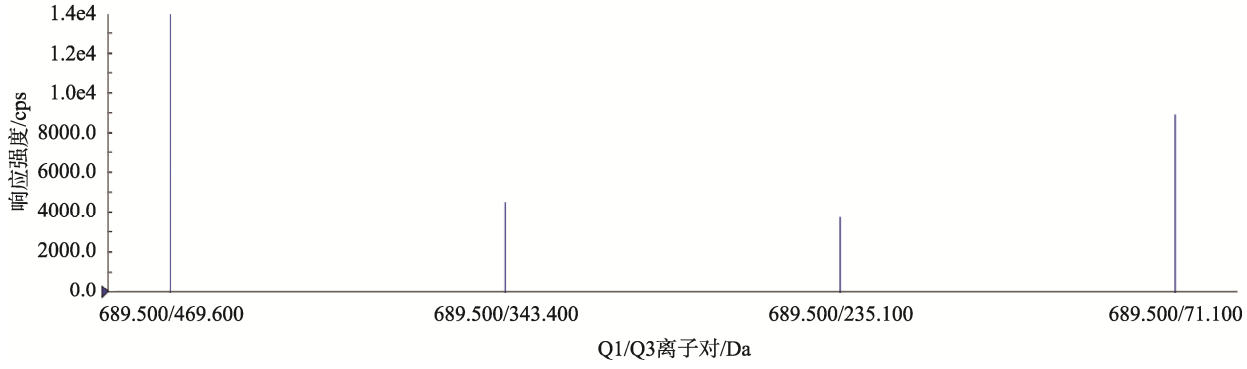

图 2 三(壬基酚)亚磷酸酯标准质谱图

Fig.2 Standard mass spectrum of tris(nonylphenyl)phosphite

2.4　线性关系和检出限

将三(壬基酚)亚磷酸酯标准中间溶液用相应的食品模拟物逐级稀释, 按 1.3.3 液相色谱-串联质谱条件进行检测, 以定量离子对的信噪比 $S/N \geqslant 3$ 计算该方法的检出限。在 1.3.3 液相色谱-串联质谱条件下测定系列标准工作溶液, 以三(壬基酚)亚磷酸酯标准工作溶液的质量浓度(X, μg/L)为横坐标, 以定量离子对的峰面积 Y 为纵坐标, 建立线性回归方程。线性范围、线性方程和检出限见表 3。

由表 3 可知, 在水、4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇和 50%乙醇 5 种食品模拟物中, 三(壬基酚)亚磷酸酯的检出限为 0.005 mg/L, 其质量浓度在 10~500 μg/L 范围内与定量离子对峰面积呈现良好的线性关系, 相关系数均不低于 0.9997。

2.5　精密度与准确度

以不含三(壬基酚)亚磷酸酯的某类金属罐作为基质罐, 对其进行迁移实验, 将迁移实验得到的食品模拟物进行加标回收实验。分别对每种食品模拟物水、4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇和 50%乙醇进行 4 个浓度水平的加标回收实验, 并选取其中 1 个浓度水平进行 6 次平行实验以考察其精密度, 另外 3 个浓度水平进行 2 次平行实验。加标回收实验结果见表 4。由表 4 可知, 在食品模拟物水、4%乙酸、10%乙醇、20%乙醇和 50%乙醇中, 三(壬基酚)亚磷酸酯的加标回收率在 94.20%~106.40%之间, 测定结果的相对标准偏差不大于 5%(n=6), 可见该方法具有较好的精密度和准确度。

3　结论与讨论

本研究建立了一种测定金属罐中三(壬基酚)亚磷酸酯迁移量的液相色谱-串联质谱分析方法。该方法与专利申请 CN108398497A[3]中公开的检测方法相比, 其前处理较简单, 分析时间缩短了近一倍, 灵敏度提高了近百倍, 测定结果具有较高的精密度和准确度, 可用于金属罐中三(壬基酚)亚磷酸酯迁移量的快速检测。下一步将对金属罐的涂层或覆膜层中的三(壬基酚)亚磷酸酯含量进行相关检测方法的研究。

表 3　线性范围、线性方程和检出限
Table 3　Linear ranges, linear equations and detection limits

食品模拟物	线性范围/(μg/L)	线性方程	相关系数	检出限/(mg/L)
水	10~500	Y=70.070X–259.728	0.9997	0.005
4%乙酸	10~500	Y=66.840X+313.319	0.9999	0.005
10%乙醇	10~500	Y=44.793X–205.880	0.9999	0.005
20%乙醇	10~500	Y=73.144X+8.395	0.9999	0.005
50%乙醇	10~500	Y=74.106X+170.351	0.9997	0.005

表 4　加标回收率和精密度(n=6)
Table 4　Recoveries and relative standard deviations (n=6)

加标量/(μg/L)	水		4%乙酸		10%乙醇		20%乙醇		50%乙醇	
	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%
30	104.43	—	98.97	—	98.93	—	94.97	—	94.20	—
100	105.44	—	104.31	—	98.70	—	101.44	—	101.97	—
200	106.40	3.50	104.66	2.63	101.47	4.59	101.06	2.37	—	—
300	98.53	—	105.83	—	98.54	—	106.03	—	101.79	—
500	—	—	—	—	—	—	—	—	99.64	1.08

注:“—”表示没有相关数据。

参考文献

[1] YU PL, LIN HW, WANG SW, *et al*. Effects of nonylphenol on the production of progesterone on the rats granulosa cells [J]. J Cell Biochem, 2011, 112(9): 2627–2636.

[2] XU J, WANG Y, YU J, *et al*. Toxic effect of gestational exposure to nonylphenol on F1 male rats [J]. Birth Defects Res B, 2010, 89(5): 418–428.

[3] 刘小慧, 王蓉佳, 张芳芳. 一种三(壬基酚)亚磷酸酯的高效液相色谱检测方法: 中国, CN108398497A [P]. 2018-08-14.
LIU XH, WANG RJ, ZHANG FF. A kind of detection method of tris (nonylphenyl) phosphite by high performance liquid chromatography: China, CN108398497A [P]. 2018-08-14.

[4] 吴维吉, 李旭, 刘佳, 等. 气相色谱串联质谱法测定植物油中壬基酚[J]. 粮油食品科技, 2016, 24(6): 67–70.
WU WJ, LI X, LIU J, *et al*. Determination of nonylphenol in vegetable oil by gas chromatography–tandem mass spectrometry [J]. Sci Technol Cere Oils Foods, 2016, 24(6): 67–70.

[5] 施嵘, 倪红妹. 婴幼儿配方乳粉中壬基酚检测[J]. 食品工业, 2019, 40(8): 266–269.
SHI R, NI HM. Detection of nonylphenol method in infant formula powder [J]. Food Ind, 2019, 40(8): 266–269.

[6] SALOMON KY, ZHANG CX, SYLVAIN AK, *et al*. Determination of nonylphenol and its ethoxylates by HPLC 1100 in water environment of Taiyuan city [J]. Int J Environ Clim Change, 2019, 9(11): 660–670.

[7] 李志刚, 吴勇. 超快速液相色谱-荧光可变波长测定纺织废水中酚类污染物[J]. 印染助剂, 2018, 35(8): 61–64.
LI ZG, WU Y. Determination of phenolic pollutants in textile wastewater by ultra-fast liquid chromatography coupled with fluorescence variable wavelength [J]. Text Aux, 2018, 35(8): 61–64.

[8] 陈旭明, 李婷. 塑料食品接触材料中壬基酚含量的测定[J]. 包装与食品机械, 2018, (2): 68–70.
CHEN XM, LI T. Determination of nonylphenol in plastic food contact materials [J]. Packag Food Mach, 2018, (2): 68–70.

[9] 孙艺, 吴天伟, 崔蓉, 等. 高效液相色谱法测定动物组织中壬基酚、辛基酚和 2, 4-二叔丁基酚[J]. 中国卫生检验杂志, 2016, (15): 2164–2167.
SUN Y, WU TW, CUI R, *et al*. Determination of nonylphenol, octylphenol and 2, 4-ditert-butylphenol in animal tissue by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2016, (15): 2164–2167.

[10] 王晓娟, 李斌鑫, 倪锋萍, 等. 高效液相色谱-质谱法测定塑料及其制品中壬基酚和壬基酚聚氧乙烯醚[J]. 化学世界, 2021, 62(3): 149–154.
WANG XJ, LI BX, NI FP, *et al*. Determination of nonylphenol and nonylphenol polyethoxylates in plastic by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chem World, 2021, 62(3): 149–154.

[11] 邱丰艳, 丁力, 陈雪梅, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定食品接触材料中烷基酚物质迁移量[J]. 化学分析计量, 2020, 29(1): 35–39.
QIU FY, DING L, CHEN XM, *et al*. Determination of alkylphenol compounds in food contact material by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem Anal Meterage, 2020, 29(1): 35–39.

[12] 王权帅, 孙卫明. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定牛奶中壬基酚残留量方法及不确定度评定[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(24): 9214–9220.
WANG QS, SUN WM. Determination of nonylphenol in milk by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and the evaluation of the uncertainty [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(24): 9214–9220.

[13] 陈旭明, 李婷. 食品用塑料包装中壬基酚迁移量的检测[J]. 包装与食品机械, 2019, 37(2): 66–69.
CHEN XM, LI T. Determination of Nonylphenol migration in plastic food packaging [J]. Packag Food Mach, 2019, 37(2): 66–69.

[14] 孙多志, 周耀斌. 液相色谱串联质谱法测定复合膜袋中壬基酚的迁移量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7133–7137.
SUN DZ, ZHAO YB. Determination of the migration of nonylphenol in composite film bags by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(21): 7133–7137.

[15] 王浩, 贾婧怡, 于晓瑾, 等. 液相色谱–串联质谱法测定食品中壬基酚残留[J]. 食品工业, 2020, 41(2): 272–275.
WANG H, JIA JY, YU XJ, *et al*. Determination of nonyl phenol residue in food by liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. Food Ind, 2020, 41(2): 272–275.

[16] 宁霄, 金绍明, 唐亚利, 等. 同位素稀释液相色谱-串联质谱法测定食品中的 5 种环境类雌激素[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(1): 40–47.
NING X, JIN SM, TANG YL, *et al*. Determination of 5 environmental estrogens in food by isotopic dilution ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(1): 40–47.

[17] 毛丽莎, 姜杰, 陈慧玲, 等. 固相萃取-液相色谱/串联质谱法测定尿中 10 种双酚类物质和壬基酚及辛基酚化合物[J]. 预防医学情报杂志, 2020, 36(2): 212–218.
MAO LS, JIANG J, CHEN HL, *et al*. Determination of nonylphenol, octylphenol and 10 bisphenols in urine by solid phase extraction-liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. J Prev Med Inform, 2020, 36(2): 212–218.

[18] 张智力, 王君, 梁金海, 等. 液相色谱三重四极杆串联质谱法测定食品包装材料中壬基酚[J]. 塑料工业, 2017, 45(11): 117–120.
ZHANG Zl, WANG J, LIANG JH, *et al*. The test of nonylphenol in food packaging materials by liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination [J]. China Plast Ind, 2017, 45(11): 117–120.

[19] 李翔宇, 舒敏, 陆姝欢, 等. LC-MS-MS 法测定包装材料中壬基酚含量及其迁移量[J]. 中国食品添加剂, 2016, (8): 172–176.
LI XY, SHU M, LU SH, *et al*. Determination nonylphenol residues and migration in packages by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chin Food Addit, 2016, (8): 172–176.

[20] 公丕学, 廉贞霞, 薛霞, 等. UPLC-MS/MS 测定婴幼儿配方乳粉中双酚 A 和壬基酚[J]. 食品工业科技, 2019, 40(17): 238–243, 250.
GONG PX, LIAN ZX, XUE X, *et al*. Determination of bisphenol A and nonylphenol in infant formula milk powder by UPLC-MS/MS [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(17): 238–243, 250.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

李灿明, 硕士, 主要研究方向为金属包装有害物迁移。
E-mail: 13581782262@139.com

柏建国, 博士, 主要研究方向为金属包装有害物迁移。
E-mail: bjg@orgpackaging.com