

文章编号 :1001-5914(2010)02-0143-02

饮用水中双酚 A 的固相萃取-高效液相色谱-电喷雾电离串联质谱测定法

俞晔,袁大炜,邹建新

摘要:目的 建立固相萃取-液相色谱-电喷雾电离串联质谱测定饮用水中双酚 A 的方法。方法 水样用 SEP-PAK C₁₈ 进行富集,甲醇淋洗,旋转蒸发浓缩后,采用高效液相色谱-负离子电喷雾电离串联质谱法测定。结果 双酚 A 在 5~100 ng/ml 线性范围内,得到回归方程 $y=6\ 796.61x-8\ 655.64$ 相关系数为 0.999 2,检测限(S/N=3)为 0.0075 ng/ml,定量下限(S/N=10)为 0.025 ng/ml。该方法的平均回收率为 83.46%~94.00%,RSD 为 3.06%~4.60%。结论 该方法简便、准确、快速,适用于水中双酚 A 的检测。

关键词:色谱法;液相;质谱;水;双酚 A

中图分类号:O657.6

文献标识码:A

Method for Determination of Bisphenol A in Drinking Water by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry
YU Ye, YUAN Da-wei, ZOU Jian-xin. Zhangjiagang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau Zhangjiagang Jiangsu 215600, China

Abstract: Objective To develop a rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in drinking water by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Methods** Bisphenol A was extracted from the drinking water sample by a SEP-PAK C₁₈ column, eluted with methanol and concentrated with a rotary evaporator. The extract was analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with electrospray ionization. **Results** The calibration curve of bisphenol A was linear in the range of 5–100 ng/ml, the linear equation was $y=6\ 796.61x-8\ 655.64$ and the correlation coefficients of linear calibration curve was 0.999 2. The limit of detection (S/N=3) and the limit of quantification (S/N=10) of bisphenol A were 0.007 5 ng/ml and 0.025 ng/ml, respectively. The rates of recovery of bisphenol A were from 83.46% to 94.00% and the relative standard deviation was 3.06%–4.60%. **Conclusion** The method is simple, rapid, accurate and is applicable to the qualitative and quantitative determination of bisphenol A in drinking water.

Key words: Chromatography; liquid; Mass spectrometry; Water; Bisphenol A

双酚 A 是一种与雌激素相似的神经毒剂和生殖毒剂,能妨碍机体健康生长和机体的功能^[1,2]。针对实验动物的毒理学研究显示,双酚 A 可在生长发育的关键阶段对生殖系统、神经系统和免疫系统造成损害,并同前列腺癌、乳腺癌、早熟和生殖器缺陷有关^[3,4]。双酚 A 常用于生产饮用水桶,有的饮用水桶甚至用回收塑料制成,其中的双酚 A 含量更高^[5]。在用聚碳酸酯饮用水桶存放水时,不可避免地发生双酚 A 的迁移。GB 5749—2006《生活饮用水卫生标准》明确规定了饮用水中双酚 A 含量不得超过 0.01 mg/L^[6]。因此,研制灵敏、高效、稳定的双酚 A 检测方法,准确测定双酚 A 含量对于保护人体健康具有非常重要的意义。目前,双酚 A 的检测方法主要包括气相色谱法、气相色谱-质谱法以及液相色谱法^[7-11]。气相色谱法对双酚 A 测定的灵敏度要高于液相色谱法,但由于酚类的挥发性较差,用气相色谱测定一般需要先进行衍生化,操作较繁琐,相对而言不及 HPLC 法简便^[9]。笔者在已有研究基础上,采用 SEP-PAR C₁₈ 小柱有效富集大体积水中双酚 A,甲醇洗脱,经氮吹仪吹干溶剂,用甲醇和水(1+1)溶解残渣后,采用高效液相色谱-电喷雾电离串联质谱测定(LC-MS-MS)法进行测定。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

HP1100 型高效液相色谱-电喷雾电离串联质谱联用仪 [美国 Agilent 公司],配备四元梯度泵、在线真空脱气机、100 位自动进样器、配有电喷雾电离 (ESI) 源,超纯水发生器 (美国 Milli-pore 公司),21011V001 R200 型氮吹仪 (瑞士 Buchi 公司),KQ-500DB 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司),SEP-PAR C₁₈ 小柱 (500 mg/3 ml,美国 Waters 公司)。

双酚 A (浓度 >97% Sigma-Aldrich 公司),甲醇 (HPLC 级,德国 Sigma 公司),乙腈 (HPLC 级,德国 Sigma 公司)。二次蒸馏水 (经超纯水发生器处理过的 HPLC 用水)。

1 000 g/ml 双酚 A 标准贮备液的配制 称取双酚 A 10.0 mg,用甲醇溶解定容至 100 ml,置于冰箱冷冻保存。

1.2 测定条件

1.2.1 色谱条件 液相色谱柱为 Varian Polaris C₁₈-A (100 mm×2.1 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水,流量为 0.25 ml/min,柱温为室温,进样量为 20 μl。梯度条件见表 1。

表 1 梯度洗脱条件 (%)

时间 (min)	甲醇	水
0~3	50	50
3~6	90	10
6~8	50	50

基金项目:国家质检总局项目(2007IK271)

作者单位:张家港出入境检验检疫局食品检验监督科(江苏 张家港 215600)

作者简介:俞晔(1972-),女,高级工程师,从事食品理化和食品卫生检测研究。

1.2.2 MS-MS 条件 电离方式为 ESI, 负离子模式, 喷雾电压为 3 500 V, 鞘气为 40 arb, 辅助气为 7arb; 毛细管温度为 330 °C, 扫描窗口宽度 Q_1 为 0.7, Q_3 为 0.7; 母离子为 227, 子离子(碰撞能量)为 133 (25 eV), 212 (18 eV); 毛细管出口电压为 135 V; 定量离子对(m/z)为 227/212; 定性离子对(m/z)为 227/212, 227/133。

1.3 标准曲线的绘制

配制 5、10、20、50、100 ng/ml 双酚 A 系列标准溶液, 进样, 进行 LC-MS-MS 检测。以峰面积(y)对质量浓度(x)绘制标准曲线。以 3 倍信噪比(S/N)为 3 计算检测限, 以 10 倍信噪比(S/N)计算定量下限。

1.4 样品的处理

SEP-PAR C_{18} 小柱先用 5 ml 甲醇和 5 ml 水依次淋洗, 淋洗流量控制在 4 ml/min, 在洗净烘干的烧杯中倒入 200 ml 水样, 经大体积采样器与 C_{18} 小柱相连, 上样结束, 用 2×4 ml 的甲醇洗脱, 洗脱液在氮吹仪上(40 °C)小心吹干, 1 ml 甲醇水溶液(1+1)溶解残渣, 过 0.22 μ m 滤膜后供 LC-MS-MS 检测。

2 结果与讨论

2.1 ESI-MS-MS 参数的优化

化合物定性一般需要一个母离子和 2 个子离子。取 10 μ g/ml 双酚 A 标准溶液, 在负离子模式下采用全扫描模式, 双酚 A 主要生成[M-H]⁻($m/z=227$)。选择性对[M-H]⁻峰进行碎裂产物离子扫描, 通过优化毛细管出口电压和碰撞能量, 使得 2 个子离子在保证分辨率的条件下灵敏度最佳。在本方法设定的质谱条件下, 双酚 A 主要产生很强的二级特征离子峰为 212(m/z), 该二级特征离子是母离子[M-H]⁻丢失一个甲基后产生的, 同时产生二级离子(m/z)133, 因此, 以 212(m/z)为定量离子峰, 133(m/z)和 227(m/z)为定性离子峰。

2.2 线性范围、回归方程和检出限

在 5~100 ng/ml 浓度范围内, 得到回归方程 $y=6\ 796.61x-8\ 655.64$, 相关系数为 0.999 2, 表明线性关系较好。方法所得的检出限为 1.5 ng/ml, 定量下限为 5 ng/ml。以量取 200 ml 水样计算, 双酚 A 的检出限和定量下限分别为 0.007 5 和 0.025 ng/ml。

2.3 精密度和回收率

分别将低(0.026 ng/ml)、中(0.052 ng/ml)、高(0.260 ng/ml) 3 个浓度水平的标准溶液加入到 200 ml 空白水样中进行加标回收试验, 每个添加水平测定 6 次。表 2 可见, 该方法的平均回收率为 83.46%~94.00% RSD 为 3.06%~4.60%, 说明该方法准确、可靠。

表 2 水中双酚 A 固相萃取-高效液相色谱-电喷雾电

样品	高串联质谱测定法的加标回收试验 ($n=6$)			RSD (%)
	加标值 (ng/ml)	测定值 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)	平均回收率 (%)	
样品 1	0.026	0.021 71±0.001 00	83.46	4.60
样品 2	0.052	0.046 50±0.002 27	89.42	4.89
样品 3	0.260	0.244 42±0.007 48	94.00	3.06

2.4 实际样品的检测

采用该方法对 5 种矿泉水、5 种聚碳酸酯桶装水、自来水和蒸馏水水样中 BPA 含量进行检测, 结果显示, 5 种聚碳酸酯桶装水水样中检出 BPA, 其含量分别为 0.87、1.27、1.43、0.92、0.75 ng/ml, 瓶装矿泉水、自来水和蒸馏水中均未检出双酚 A, 说明聚碳酸酯桶中的双酚 A 在存放过程中向水中发生了微量的迁移。

3 小结

本研究将液相色谱-串联质谱分析方法应用于饮用水中双酚 A 的分析, 为饮用水中双酚 A 的迁移测定提供了一种准确、灵敏的定性、定量方法, 适用于水中痕量双酚 A 的测定。

参考文献:

- [1] 贾凌志, 李君文. 环境中双酚 A 的污染及降解去除的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(2):120-122.
- [2] Iso T, Watanabe T, Iwamoto T, et al. DNA damage caused by bisphenol A and estradiol through estrogenic activity [J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29:206-210.
- [3] 尹大强, 侯亚义. 双酚 A 和几种天然激素对鲫鱼淋巴细胞增殖的影响[J]. 中国环境科学, 2002, 22(5):392-396.
- [4] 靳翠红, 赵剑, 等. 双酚 A 对雄性小鼠生殖系统的影响[J]. 中国医科大学学报, 2002, 31(2):123-124.
- [5] 王玉飞, 陈衡平, 陈晖. 桶装饮用水中双酚 A 的溶出及 GC/MS 分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(5):581-582.
- [6] GB 5749—2006 生活饮用水卫生标准[S].
- [7] 汪莉, 刘红河, 李丽莎. 高效液相色谱法测定环境雌激素[J]. 实用预防医学, 2004, 11(2):360-361.
- [8] Markus N, Magnus M, Klaus W. Determination of the exoestrogens 4-nonylphenol and bisphenol-A by high-performance liquid chromatography and fluorescence detection after derivatisation with dansyl chloride[J]. J Chromatogr A, 2002, 945:133-138.
- [9] 张文德. 食品及包装材料中双酚 A 的残留和检测方法[J]. 理化检验化学分册, 2001, 37(4):188-191.
- [10] Sun C, Leong LP, Barlow PJ, et al. Single laboratory validation of a method for the determination of Bisphenol A, Bisphenol A diglycidyl ether and derivatives in canned foods by reversed liquid chromatography[J]. Chromatogr A, 2006, 1129:145-148.
- [11] 梁志坚, 刘艳和, 刘贵明, 等. 塑料制品中双酚 A 高压液相色谱测定[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(9):1146-1147.

(收稿日期 2009-09-09 修回日期 2009-12-20)

(本文编辑 韩威)

本刊关于授予论文作者继续医学教育学分的事

根据《中华预防医学会系列杂志论文作者继续医学教育学分授予要求》, 凡在本刊发表的论文、综述、专题报告、译文均可授予中华预防医学会继续医学教育学分。论文、综述的第一、二、三、四、五位作者授予的分值分别为 10、8、6、4、2 分; 专题报告每 3000 字授予 1 分, 医学译文每 1500 字授予 1 分。《继续医学教育证书》由中华预防医学会统一印制。论文作者凡需要者, 可在收到编辑部的稿件录用通知时向本刊编辑部提出申购, 学分证书为每证 30 元。

本刊编辑部