

应用纪要

使用ACQUITY UPLC搭配Xevo TQD快速分析 婴儿食品和婴儿配方奶粉中的双酚A、B和E

Claude R. Mallet

Waters Corporation

摘要

本应用纪要展示了在五分钟内快速分析配方奶粉和婴儿食品中的BPA、BPB和BPE的方法。

优势

RADAR功能和TargetLynx矩阵计算器是很有价值的计算工具，可以提供关键信息并用于优化方法开发，帮助获得成功的多步提取方法。

简介

双酚A (BPA)是一种主要用于聚碳酸酯塑料和环氧树脂生产的添加剂。这些合成材料在食品包装中应用广泛，用以保护食品和饮料的安全性和完整性。许多食品和饮料容器的生产中都会使用聚碳酸酯，例如奶瓶、餐具和其他食品容器。环氧树脂涂层可以防止金属罐被腐蚀和食品污染。

BPA是一种内分泌干扰物，它能够模拟人体自身的激素，可能会对健康产生不良影响。2001年，人们开始注意到BPA的雌激素活性问题，一些国家的政府发布了相关报告，质疑BPA用于消费品的安全性。加拿大通过《化学品管理计划》将BPA列为有毒物质，成为第一个对BPA采取行动的国家。美国食品药品监督管理局(FDA)于2010年发布

了一份报告，对胎儿、婴儿和幼儿的BPA暴露表示关注，该报告促使人们开始进一步研究BPA的安全性¹。最近的一项欧盟指令(EU 2011/8/EU)已经禁止在婴儿奶瓶中使用BPA²。自最近食品行业中禁用BPA产品以来，制造商们正在积极地为新型环氧树脂制剂寻找双酚类物质替代品^{3,4}。本应用纪要展示了婴儿食品和配方奶粉中三种双酚（A、B和E）的分析结果。

实验

样品前处理条件

DisQuE

试管1:	50 mL试管，部件号186004837
	4.0 g MgSO ₄ , 1.0 g NaCl, 1.5 g 柠檬酸钠
试管2:	15 mL试管，部件号186004834
	900 mg MgSO ₄ , 150 mg PSA, 150 mg C ₁₈

SPE

小柱:	Oasis HLB 30 mm, 60 mg/3 cc
活化:	2 mL甲醇
平衡:	2 mL水
上样:	70 mL稀释后的提取物

流速:	< 5 mL/min
清洗:	2 mL 40% MeOH水溶液
洗脱:	1 mL 100% MeOH

UPLC条件

UPLC系统:	ACQUITY UPLC
运行时间:	5.0 min
色谱柱:	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ , 2.1 x 50 mm, 1.7 µm
柱温:	40 °C
流动相A:	0.5% NH ₄ OH水溶液
流动相B:	0.5% NH ₄ OH甲醇溶液
洗脱:	流动相B在3 min内以线性梯度从5%增加至95%
流速:	0.5 mL/min
进样体积:	50 µL

MS条件

质谱系统:	Xevo TQD
-------	----------

电离模式：	ESI-
毛细管电压：	3.5 kV
锥孔电压：	30.0 V
离子源温度：	140 °C
脱溶剂气温度：	350 °C
脱溶剂气流速：	550 L/h
锥孔气流速：	50 L/h

双酚（BPA、BPB和BPE）的化学结构和所用MRM条件分别见图1和表1，采用双酚A D16作为内标。

婴儿配方奶粉和婴儿食品的实验提取方案结合了多种提取技术，如图2所示。方案的第一步采用乙腈盐析效应，通常称为QuEChERS方法⁵。此步骤使用Waters DisQuE净化管完成，管中含有适当比例的柠檬酸钠、氯化钠和硫酸镁盐。使用第二个DisQuE管进一步净化有机层（乙腈），管中含有硫酸镁、N-丙基乙二胺(PSA)和C₁₈的混合物。方案的第二步是在Oasis HLB柱上进行固相萃取(SPE)，如图2所示。最终的甲醇提取物用水按1:1的比例进行简单稀释后，即可进样至ACQUITY UPLC色谱柱。此方案避免了蒸发和重溶步骤。

利用配有ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 2.1 x 50 mm色谱柱的ACQUITY UPLC系统进行色谱分离。分离方法采用含0.5% NH₄OH的水/甲醇的3 min线性梯度，通过Xevo TQD进行检测。

结果与讨论

在食品样品的分析中，通常会面临从食品基质中提取目标分析物这一重要分析难题。为获得用于定量分析的高质

量提取物，可能需要结合使用多种提取技术。此外，要实现LC-MS/MS定量分析方案的稳定耐用，还需尽可能评估基质效应并将其降至最低。这些影响可能包括峰畸变和信号抑制或增强。

因此，开发合适的提取技术并评估基质效应将是一项耗时耗力的艰巨任务。能够在方法开发过程中提供关键信息的工具将有助于减少开发过程的步骤并提高实验室效率，这些信息还可用于确保所选方法的稳定性。本应用纪要介绍了两种可以帮助完成这一过程的工具：RADAR和矩阵计算器。

RADAR

RADAR是Xevo串联四极杆质谱仪的特色功能，能够同时采集完整扫描MS数据和MRM通道。此功能可帮助用户在方法开发过程中做出明智决策。在婴儿配方奶粉和婴儿食品的双酚A分析中，通过上述这两款工具来评估方法开发过程中的方法稳定性和基质效应。本应用纪要将介绍这些工具的用法示例，以及通过最终方法从加标样品获取的结果。图3所示为两种不同方案所得婴儿配方奶粉提取物的RADAR（完整扫描）总离子流色谱图。每张色谱图的插图展示了相应提取物的照片。色谱图A为仅采用蛋白沉淀法后在Oasis HLB柱上进行SPE处理所得提取物的谱图。从完整扫描TIC色谱图可以看出，该色谱图中存在多种潜在干扰物。插图中的照片显示，完成样品前处理的提取物浑浊不清。

色谱图B对应于在SPE步骤之前采用QuEChERS方案（如图2所示）获得的提取物。从RADAR色谱图中可以看出，干扰物已经减少。提取物也很澄清，如插图所示。

矩阵计算器

TargetLynx应用管理软件中的矩阵计算器是一款简单的方案，可用于评估基质对特定分析物定量分析的影响。将获自RADAR的定性信息与针对基质效应因子的计算相结合，可为方法开发提供更多的有用信息。基质效应的计算方法是测定净化提取参比样品与基质提取物中目标分析物和内标的响应比率。在本文介绍的应用中，选择蒸馏水作为参比样品。计算值1.0表示在分析过程中未检测到基质效应。如果提取物的所得值低于1.0，则表明存在离子抑制。值大于1.0时则表示信号增强。

矩阵计算器的使用在应用纪要720003580en中有详细介绍⁶。图4展示了使用矩阵计算器分析婴儿配方奶粉中BPA的结果示例截图。

在本应用纪要中，仅采用SPE方案处理的婴儿配方奶粉样品中BPA、BPB和BPE的测得基质值分别为0.89、0.72和0.86。采用图2所示的样品提取方案后，婴儿配方奶粉的基质值显示出明显改善，BPA为1.05，BPB为0.95，BPE为1.04。图4展示使用和不使用IS的结果。在不使用IS的情况下，计算出的基质效应因子为1.05，%CV为4.5，表

明没有可测量的基质效应。使用IS计算得到的基质效应因子也接近1.0。

将RADAR与矩阵计算器相结合，可以清晰深入地了解方法开发过程，并基于可测量的观察结果使用多步提取方案

。

Matrix Factor: BPA

Solvents

Sample Name	Sample Type	Analyte Area	IS Area	Area Ratio	
ref methanol/water unextracted	Solvent	1.86e+007	4.32e+007	0.43	
ref methanol/water unextracted	Solvent	1.91e+007	4.61e+007	0.41	
ref methanol/water unextracted	Solvent	1.88e+007	4.49e+007	0.42	
ref methanol/water unextracted	Solvent	1.90e+007	4.43e+007	0.43	
ref methanol/water unextracted	Solvent	1.84e+007	4.82e+007	0.38	
	Average	1.88e+007	4.54e+007	0.41	
	%CV	1.56	4.22	4.75	

Matrix

Sample Name	Sample Type	Analyte Area	IS Area	Area Ratio	Matrix Factor	IS Norm MF	
Extract E1 milk blank quechers C18 PSA	Matrix	1.93e+007	4.91e+007	0.39	1.03	0.95	
Extract E1 milk blank quechers C18 PSA	Matrix	1.91e+007	4.62e+007	0.41	1.02	1.00	
Extract E1 milk blank quechers C18 PSA	Matrix	1.99e+007	5.36e+007	0.37	1.06	0.90	
Extract E1 milk blank quechers C18 PSA	Matrix	1.89e+007	4.64e+007	0.41	1.01	0.98	
Extract E1 milk blank quechers C18 PSA	Matrix	2.11e+007	5.20e+007	0.41	1.12	0.98	
				Average	1.05	0.96	
				%CV	4.48	4.24	

Exit

图4. TargetLynx矩阵计算器分析婴儿配方奶粉中双酚A的屏幕截图。

定量分析

为评估多步提取方案的定量性能，将双酚A、B和E加标入根据制造商说明重溶的婴儿配方奶粉中，将BPA、BPB和BPE加标入绿豆泥婴儿食品中。图5和图6展示婴儿配方奶粉和婴儿食品的MRM色谱图，两种食品的加标浓度为1 ppb。婴儿配方奶粉的提取物为澄清状态，且相应的MRM色谱图显示基线稳定，有轻微干扰。绿豆婴儿食品样品的最终提取物呈淡绿色，很可能来自绿色蔬菜中的叶绿素色素。

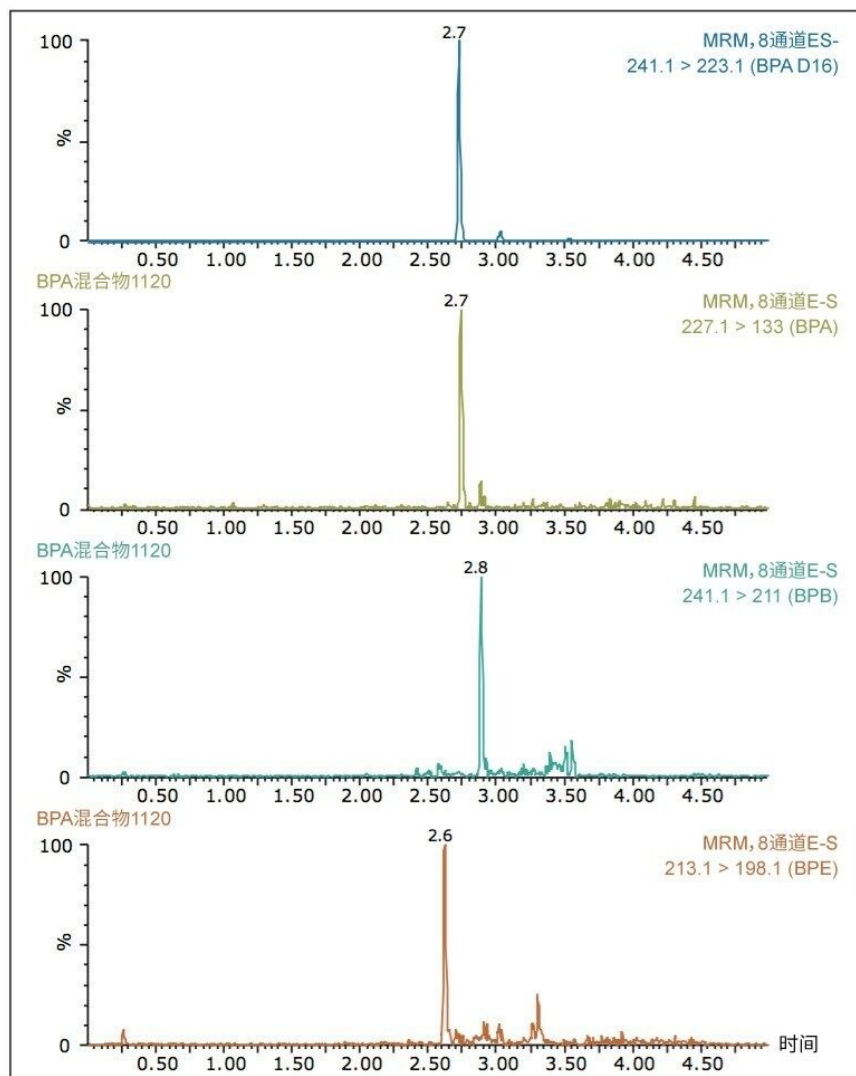


图5.1 *ppb*加标婴儿配方奶粉提取物的MRM色谱图。

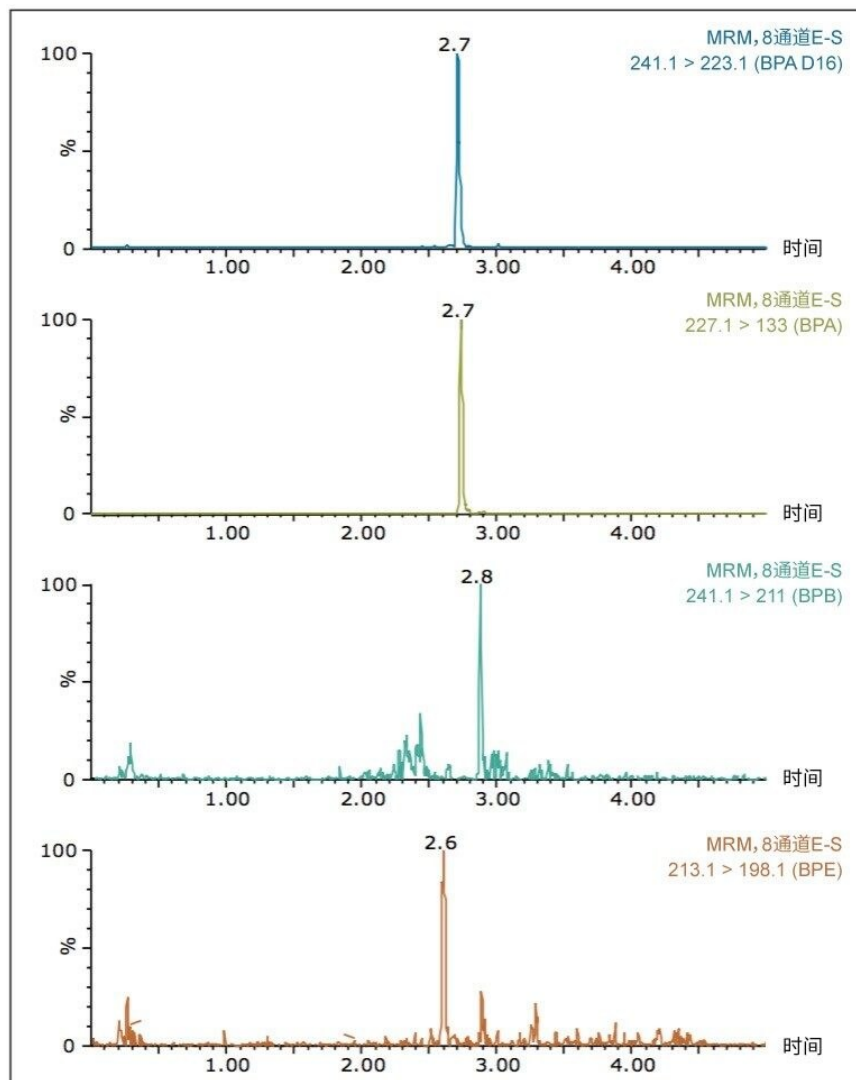


图6.1 *ppb*加标婴儿食品提取物的MRM色谱图。

图7展示从婴儿配方奶粉中提取到的加标BPA的校准曲线示例，在婴儿配方奶粉中重复制备每个浓度水平并进行提取。婴儿配方奶粉中BPA的标准曲线在0.5 *ppb*至20.0 *ppb*范围内显示出线性响应， R^2 值为0.996。婴儿配方奶粉和婴儿食品中的其他双酚类物质也得到类似的结果。

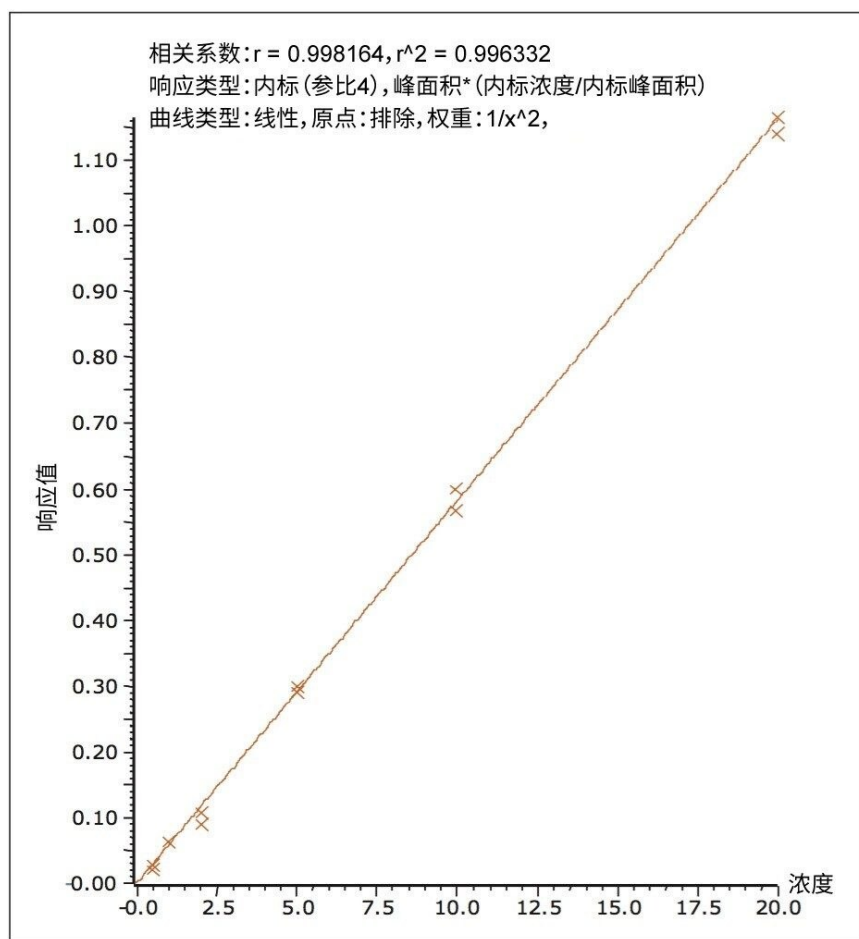


图7. 婴儿配方奶粉中加标0.5~10 ppb BPA的提取校准曲线。

婴儿配方奶粉（加标10 ppb）和婴儿食品（加标20 ppb）中BPA、BPB和BPE的回收率如表2所示。在食品应用中，80%~120%范围内的回收率为可接受值^{7,8}；因此报告的婴儿配方奶粉和婴儿食品回收率证实了多步样品提取方案的适用性。

双酚	配方奶粉	婴儿食品
BPA	102% (3.2%)	110% (7.8%)
BPB	95% (5.5%)	112% (6.7%)
BPE	81% (4.6%)	99% (6.1%)

表2. 婴儿配方奶粉和绿豆泥中加标BPA、BPB和BPE的回收率和RSD ($n = 3$)计算结果。

结论

无可否认，食品样品分析以检测痕量污染物为目标时需要稳定的提取方案。本应用纪要展示了Xevo TQD质谱仪分析配方奶粉和婴儿食品中BPA、BPB和BPE的通用性。实验证明，RADAR功能和TargetLynx矩阵计算器是方法开发过程中非常有价值的工具。这些新功能提供了关键信息，可用于优化方法开发，实现成功的多步提取方法。最终方法在两种食品基质中均获得了出色的线性和回收率。由于双酚类物质在ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱上具有高度保留性，因此只需将最终甲醇提取物用水按1:1的比例稀释即可，省去了蒸发和重溶步骤。借助此分析性能以及不到5分钟的总分析时间，最终开发出一种能够快速分析婴儿食品中双酚A、B和E的方法。此方法还可以扩展到可能与聚碳酸酯或环氧树脂接触的其他食品产品分析中。

参考资料

1. U.S. Food and Drug Administration, *Update on Bisphenol A for Use in Food Contact Applications*. January 15, 2010.
2. Official Journal of the European Union, Commission Directive 2011/8/EU on the restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles. January 28, 2011.
3. Gallart-Ayala, H, Moyano, E, Galceran, M T. *Analytical Chimica Acta*. 683: 227-233, 2011.
4. Chen, M Y, Ike, M, Fujita, M. *Environ Toxicol*. 17 : 80, 2002.

5. Anastassiades, M, Lehotay, S J, Tajnbaher, D, Schenck, F J. J. *AOAC Int.* 86: 412-431, 2003.
6. Twohig, M, Mather, J, Hooper, A. *TargetLynx Matrix Calculator: A Tool for Robust Analytical Methods Development* (《TargetLynx矩阵计算器：用于稳定分析方法开发的工具》) 沃特世应用纪要编号720003580 en。
7. De Bievre, *The fitness for purpose of analytical methods, a laboratory guide to method validation and related topics*. EURACHEM guidance document, October 2004.
8. Food and Drug Administration, *ORA Laboratory Procedure: "Methods, Method Verification and Validation"* (Volume II), Document no.ORA-LAB.5.4.5, v. 1.5, 2009 (可访问 www.fda.gov/ScienceResearch/FieldScience/ucm171877.htm 获取)

特色产品

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

ACQUITY UPLC系统 <<https://www.waters.com/514207>>

Xevo TQD三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134608730>>

720004192ZH, 2012年1月



©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号