

自动样品前处理和液相色谱-质谱联用技术检测婴儿配方奶粉中的双酚A

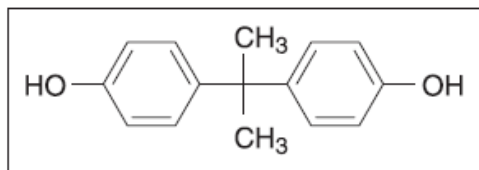
Yang Shi, Catherine Lafontaine, Matthew Berube, Francois Espourteille, 赛默飞世尔科技, 富兰克林, 马萨诸塞州, 美国

关键词

Aria TLX-1; TurboFlow技术; TSQ Vantage; 婴儿配方奶粉; 食品安全

前言

2,2-二(4-羟基苯基)丙烷, 常被称为双酚A (BPA), 它是生产塑料的一种主要原料。双酚A也被大量用于各种食品和饮料包装的生产。由于BPA能在罐装食品金属包装的塑料内层浸出, 接触BPA可能带来的潜在危害近年来得到了广泛关注。较高水平的双酚A与心脏病, 糖尿病和不正常的高肝酵素水平有明显的关系。接触极低浓度的BPA被普遍认为也可能可能会对婴幼儿造成伤害¹。根据美国环保署的建议, BPA的最大可接受或“参考”剂量是50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/天²。



液相色谱-质谱 (LC-MS) 联用技术已被用于食品中BPA的测定³。目前测定罐装婴儿配方奶粉中BPA含量的样品前处理方法需要采用复杂的萃取步骤, 如固相萃取, 溶剂萃取和一些微萃取技术。所有这些技术需要使用合适的溶剂对样品进行浓缩和制备。这些样品前处理方法非常费时, 且人工操作的误差导致方法不稳定。本文采用Thermo Scientific TurboFlow技术与高灵敏度的Thermo Scientific TSQ Vantage三重四极杆质谱技术联用, 为BPA的检测提供了一种高灵敏度 (低至ppb级), 省时, 能自动分析多个样品的的方法。

目的

在负离子大气压化学电离 (APCI) 模式下采用氙化内标物 (BPA-d16) 开发一种测定罐装婴儿配方奶粉中BPA含量的LC-MS/MS方法, 方法历时6分钟, 采用了自动样品前处理技术。

实验

样品前处理

用做制备空白, QC和标样的罐装婴儿配方奶粉购自马萨诸塞州当地超市。瓶盖涂有低密度聚乙烯, 瓶身材料为聚酯纤维。BPA和BPA-d16购自美国Sigma-Aldrich (密苏里州圣路易斯)。稀释液 (AmAcACN溶液) 为含3%醋酸铵的乙腈-水 (70:30, v/v) 溶液。BPA工作液使用AmAcACN溶液配制, 浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。婴儿配方奶粉溶液的配制方法为在1 g婴儿配方奶粉中加入10 mL AmAcACN溶液, 然后在10000 RPM转速下离心30分钟。上清液用于稀释配制成系列浓度的BPA标样和QC标样, 分别加入25 ng/mL BPA-d16内标物。标样浓度在0.78 ng/mL到1000 ng/mL范围内。进样体积为25 μL 。

方法

萃取液的净化在Thermo Scientific Aria TLX-1 LC系统上运行TurboFlow™方法来完成, 萃取柱为TurboFlow Cyclone P聚合物柱。在上样步骤中, 大分子没有保留, 直接进入废液中, 目标分析物则进入到萃取柱中。然后用有机溶剂洗脱进入到Thermo Scientific Hypersil GOLD aQ封端硅胶C18反相色谱柱中, 通过梯度洗脱进入到带有APCI源的TSQ Vantage™ MS中。在负离子电离化模式下监测BPA母离子m/z 227>133和212的高分辨率选择反应监测 (H-SRM) 离子对。BPA的子离子133 m/z用于定量分析, 212 m/z子离子用于验证。由于BPA-d16在水中会转化成BPA-d14 (MW 242), BPA-d16监测的是母离子m/z 241>223的H-SRM离子对。LC-MS/MS方法的总运行时间为5.6分钟。

Aria™ TLX-1系统参数

TurboFlow Cyclone P色谱柱 (0.5×50 mm)
Hypersil GOLD™ aQ (4×50 mm, 3 μm粒径)

上样泵流动相

流动相A: 10 mM 碳酸氢铵 pH10
流动相B: 含0.1%甲酸的乙腈溶液
流动相C: 20:40:40 丙酮: 乙腈: 异丙醇

洗脱泵

流动相A: 水
流动相B: 甲醇

MS分析在TSQ Vantage三重四极杆质谱上进行。MS条件如下表所示:

质谱参数

离子极性:	负离子模式
放电电流:	4.0 V
气化温度:	60 °C
毛细管温度:	275 °C
鞘气压力 (N2):	30 units
辅助气压力 (N2):	5 units
离子吹扫气 (N2):	2 units
扫描类型:	高选择反应监测模式 (H-

	SRM)
滤波器峰宽:	7.0 s
碰撞气压力:	1.2 mTorr
分割电压:	0 V
扫描宽度:	0.002 m/z
扫描时间:	0.05 s
Q1:	0.200 Da
Q3:	0.700 Da
S-Lens (m/z 321):	77 V
碰撞能 (m/z 227>133):	27 V
(m/z 227>212):	19 V

整个实验由Aria操作软件1.6.2控制。采用Thermo Scientific Xcalibur 2.0.7 SP1数据系统软件扣除背景后, 用Thermo Scientific LCQUAN 2.5.6定量软件进行数据处理。

结果与讨论

由于BPA存在于空气 (2-208 ng/m³)、灰尘 (0.2-199 ng/g)、水 (5-320 ng/L) 和其他各种来源中, 在实验室要获得真正的BPA空白几乎不可能³。因此, 我们使用Xcalibur™内置的背景扣除工具扣除了所有定量数据中的标准双空白峰。图2比较了BPA和BPA-d16在定量检出下限 (LLOQ) (0.78 ng/mL) 和上限 (ULOQ) (100 ng/mL) 浓度下的色谱图。利用LCQUAN™ 2.5.6数据定量软件进行数据处理。BPA的基体匹配校准曲线在2个数量级浓度范围内为线性, 相关系数 $r^2=0.9921$ (图3)。校准曲线上LLOQ浓度点的%CVs (n=3) 小于20%, 其他数据点小于10%。图4中预空白和后高空白 (扣除前) 的对比说明其区别可以忽略。基体的干扰通过比较相同浓度BPA加标到基体和水中的色谱图进行评估。图5为12.5和25 ng/mL浓度下的对比。如图所示, 基体干扰是很小的。

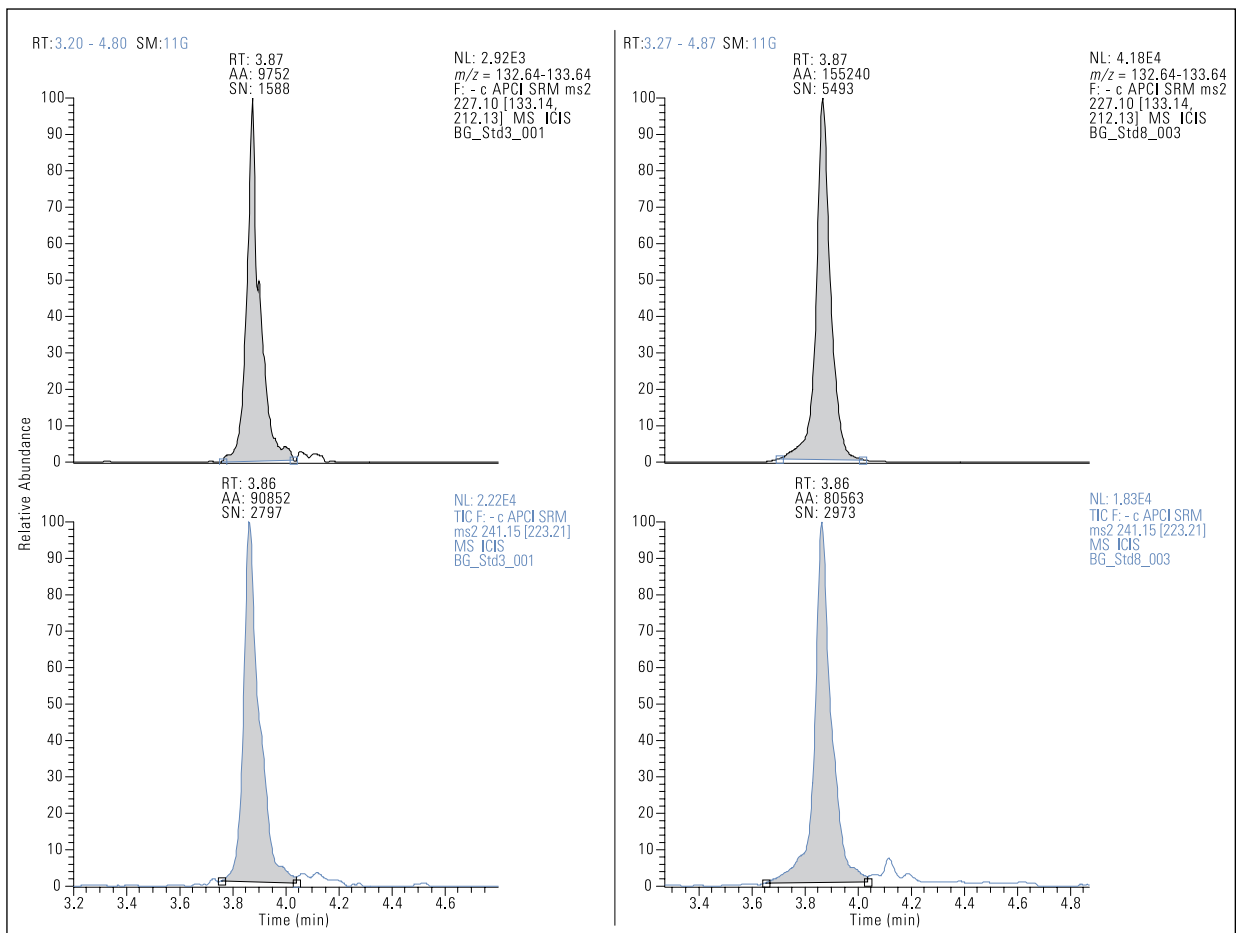


图2: 浓度为LLOQ 0.78 ng/mL (左) 和ULOQ 100 ng/mL (右) 的BPA H-SRM m/z 133离子对 (上) 和BPA-d16 (下) 的色谱图对比

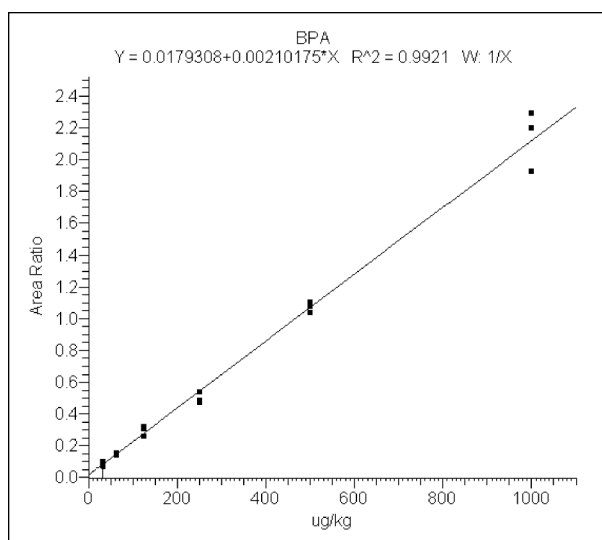


图3: 基于BPA标样与内标BPA-d16峰面积比值的BPA线性回归曲线

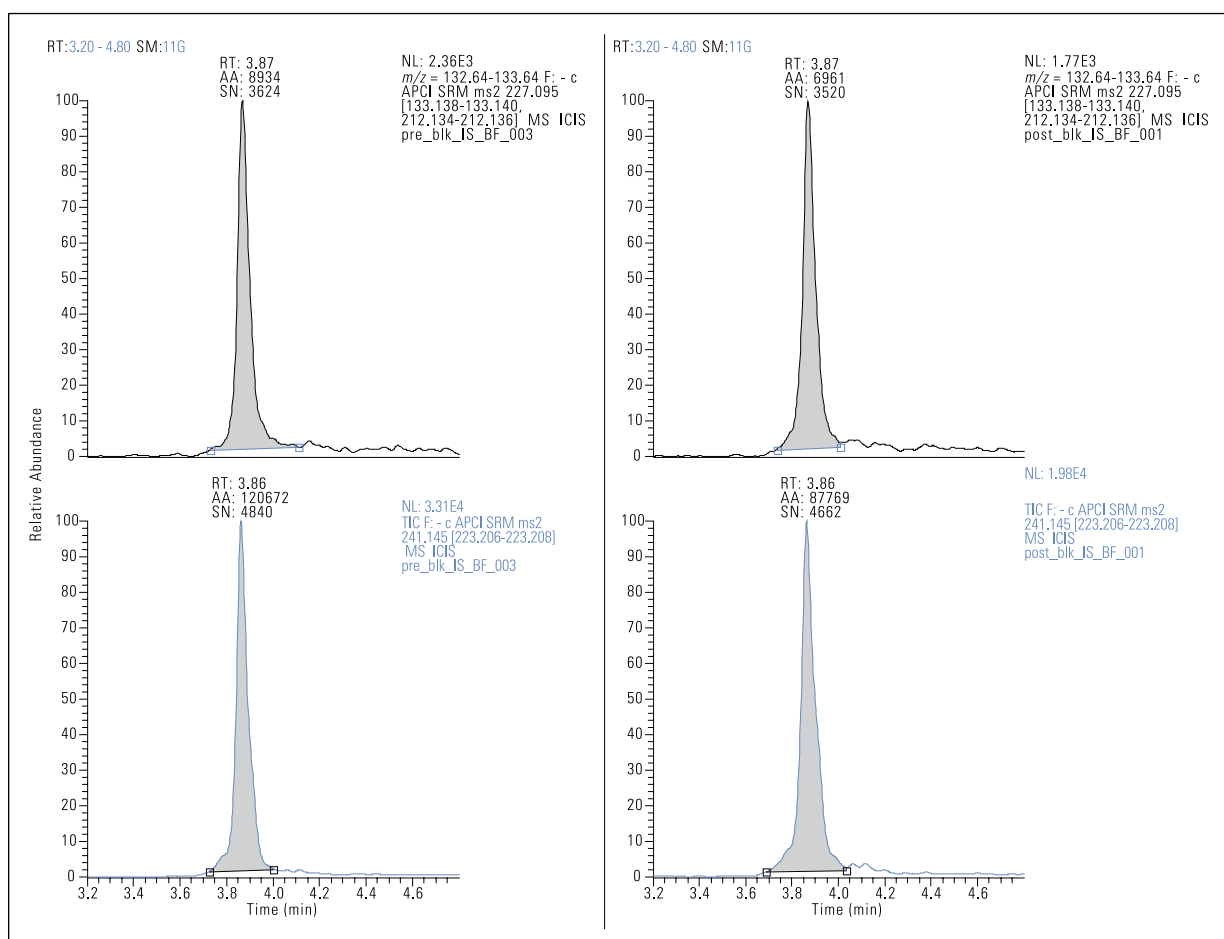


图4: 婴儿配方奶粉基体中预空白(左)和后高空白(右)的BPA H-SRM m/z 133离子对(上)和BPA-d16(下)的色谱图对比

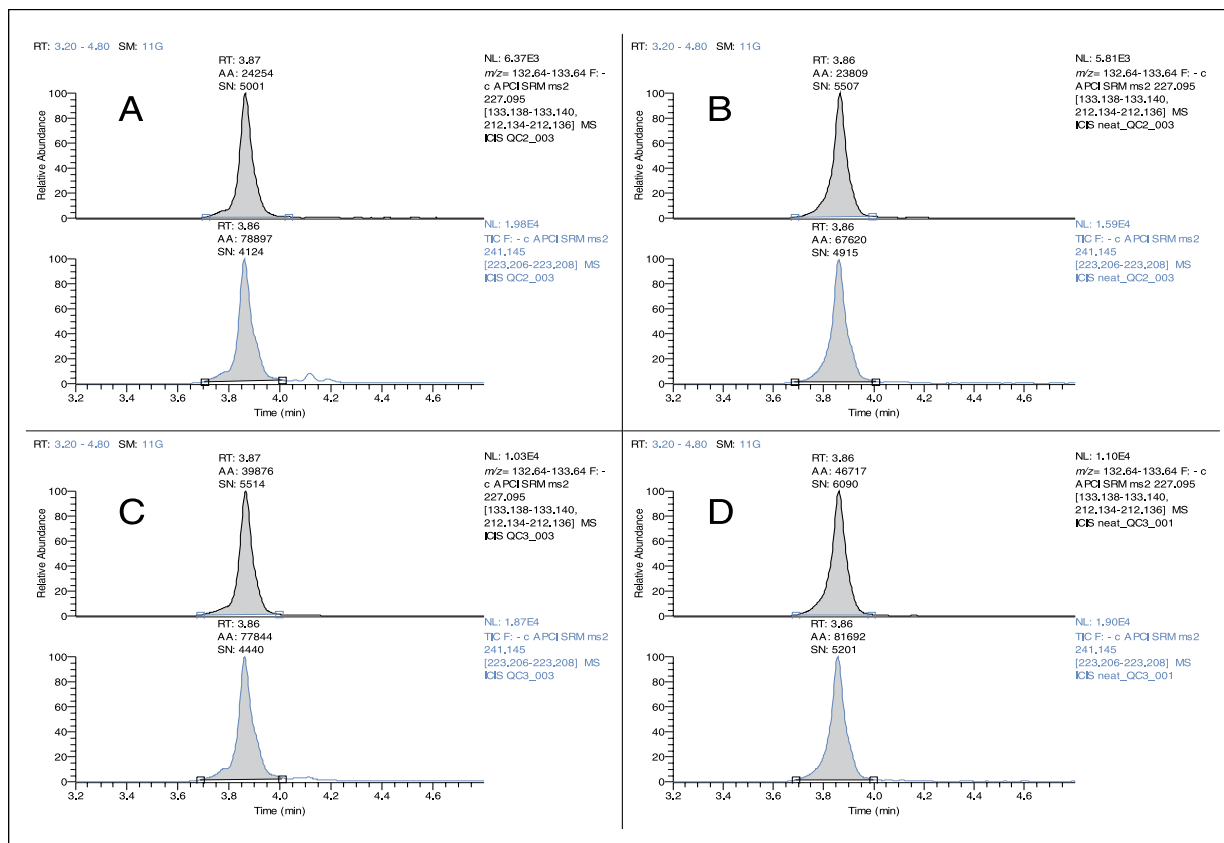


图5: 基体加标12.5 ng/mL (A), 水加标12.5 ng/mL (B), 基体加标25 ng/mL (C) 和水加标25 ng/mL (D) 样品中的 BPA H-SRM m/z 133 离子对 (上) 和 BPA-d16 (下) 的色谱图对比

我们还将 TurboFlow 技术 LC-MS/MS 的结果与另一种常用在线固相萃取方法进行了对比⁴。由于都只需要很少的离线样品处理步骤, 两种方法的样品前处理所需时间接近。但是 TurboFlow LC-MS/MS 方法的运行速度快 4 倍。由于食品基体和待测物数量的差别, 很难直接比较两种方法的检出限和定量检出限。但是, 比较的结果显示了 TurboFlow 技术在测定食品基体中 BPA 的优势。

结论

本文开发了一种快速、灵敏、样品前处理自动化的 LC-MS/MS 方法, 此方法能筛选测定婴儿配方奶粉中浓度为 7.80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) 干奶粉 (检出限) 的 BPA 和定量测定浓度为 31.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) 干奶粉 (LLOQ) 的 BPA (背景调节后)。与离线液/液或固相萃取相比, 此方法不需要费时的样品前处理步骤。TurboFlow 方法是比其他在线样品前处理技术更优越的快速前处理方法。LC-MS/MS 方法的运行时间仅仅 5.6 分钟, 而且样品通量在 Aria TLX-2 (或 TLX-4) 系统上还能提高。

参考文献

1. www.fda.gov
2. Leranthe C, Hajszan T, Szigeti-Buck K, Bober J, Maclusky NJ, Bisphenol A prevents the synaptogenic response to estradiol in hippocampus and prefrontal cortex of ovariectomized nonhuman primates, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 105 (2008) 14187.
3. Ballesteros-Gomez A, Rubio S, Perez-Bendito D, Analytical methods for the determination of Bisphenol A in food, J. Chromatogr. A, 1216 (2009), 449-469.
4. Ye X, Kuklenyik Z, Needham LL, Calafat AM, Measuring environmental phenols and chlorinated organic chemicals in breast milk using automated on-line column-switching-high performance liquid chromatography-isotope dilution tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. B, 831 (2006) 110-115.

上海
上海浦东
新金桥路27号6号楼
邮编: 201206
电话: 021-68654588
传真: 021-64457830

北京
北京东城区安定门东大街28号
雍和大厦西楼F座7层
邮编: 100007
电话: 010-84193588
传真: 010-66210845

广州
广州市东风中路410-412号
时代地产中心3001-04室
邮编: 510030
电话: 020-83145188
传真: 020-83145288

服务热线
800 810 5118
400 650 5118
analyze.cn@thermofisher.com
www.thermo.com.cn

Thermo
SCIENTIFIC

Part of Thermo Fisher Scientific