

论著

复合免疫亲和柱-高效液相色谱-串联质谱法 测定植物源食品中的双酚 A、双酚 F 和双酚 S

韩沐珂^{1,2}, 尹杰², 张晶², 邵兵²

(1. 首都医科大学公共卫生学院, 北京 100069; 2. 北京市疾病预防控制中心, 食物中毒
诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013)

摘要:目的 利用复合免疫亲和柱-高效液相色谱-三重四极杆质谱技术(HPLC-MS/MS)构建水果(苹果)、蔬菜(菠菜)、谷物(大米粉)以及婴幼儿谷类辅助食品(婴幼儿米粉)等植物源性食品中双酚 A、双酚 F 和双酚 S 的分析方法。方法 样品用乙腈或含 20% 水的甲醇溶液提取, 经复合免疫亲和柱对提取液进行净化, 采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱分离, HPLC-MS/MS 检测。结果 3 种双酚 A 类化合物在相应浓度范围内线性关系良好, 决定系数均大于 0.999; 在低、中、高 3 个不同加标浓度下, 3 种目标物的回收率为 94.81%~111.12%, 相对标准偏差为 1.25%~11.50%, 基质效应为 -10.23%~5.46%; 方法的检出限为 0.015~0.15 μg/kg, 定量限为 0.05~0.5 μg/kg。结论 本方法基于抗原抗体特异性结合的免疫亲和柱对样品进行净化, 重现性好、准确度高, 能够有效地分离和检测苹果、菠菜、大米粉以及婴幼儿米粉中的 BPA、BPS 和 BPF, 可应用于这四类食品中 BPA、BPS 和 BPF 的定性定量检测。

关键词:复合免疫亲和柱; 高效液相色谱-质谱法; 苹果; 菠菜; 大米粉; 婴幼儿米粉; 双酚 A 类化合物

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2021)06-0673-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2021.06.006

Determination of bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S in plant-based food by compound immunoaffinity column coupled with high performance liquid chromatography Tandem Mass Spectrometry

HAN Muke^{1,2}, YIN Jie², ZHANG Jing², SHAO Bing²

(1. School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Beijing Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To develop an analytical method for determination bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S in fruit (apple), vegetable (spinach), cereal (rice flour) and infant cereal supplement (infant formula rice flour) by compound immunoaffinity column coupled with high performance liquid chromatography Tandem Mass Spectrometry.

Methods The samples were extracted with acetonitrile or 80% methanol solution, purified by a compound immunoaffinity column, separated by ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column, and detected by HPLC-MS/MS. **Results** The linearity of the three bisphenol compounds in the corresponding concentration range was good with relative coefficient of R^2 greater than 0.999. The recoveries of the three kinds of bisphenol were in the range of 94.81%-111.12%, the relative standard deviations were in the range of 1.25%-11.50%, and the matrix effect was in the range of -10.23%-5.46% at low, medium and high spiked concentrations. The limits of detection were 0.015-0.15 μg/kg and the limits of quantification were 0.05-0.5 μg/kg. **Conclusion** This method is based on antigen and antibody specific binding immunoaffinity column to purify the samples, with good reproducibility and high sensitivity, and can effectively separate and detect bisphenol substances in apple, spinach, rice flour and infant formula rice flour. It could be applied to the qualitative and quantitative detection of bisphenol substances in these four kinds of food.

Key words: Compound immunoaffinity column; high-performance liquid chromatography-mass spectrometry; apple; spinach; rice flour; infant formula rice flour; bisphenol A compounds

收稿日期: 2021-10-08

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1601300)

作者简介: 韩沐珂 女 硕士生 研究方向为食品污染物检测 E-mail: hanmuke33@163.com

通信作者: 尹杰 男 副研究员 研究方向为食品污染物检测技术研究 E-mail: arnold_jay@163.com

双酚 A (Bisphenol A, BPA) 由丙酮和苯酚缩合而成,是生产环氧树脂、聚碳酸酯的主要有机化工原料^[1],曾被广泛用于奶瓶、食品包装材料等产品的生产。大量体内外实验和流行病学研究表明 BPA 属于内分泌干扰物质,与人类许多疾病如糖尿病、肥胖、心血管疾病和生殖功能障碍等存在显著关联^[2-5]。鉴于 BPA 的健康危害,美国、欧盟、加拿大和中国等多个国家和地区开始加强 BPA 的风险监测和管控^[6-7]。随着 BPA 使用受限,其结构类似物如双酚 S (Bisphenol S, BPS) 和双酚 F (Bisphenol F, BPF) 等在工业中迅速得到广泛的应用,但这些化合物并非 BPA 的安全替代品,仍然具有与 BPA 相似的内分泌干扰效应^[8-9]。现有研究表明,人体可通过空气吸入、皮肤接触和膳食摄入等多种途径暴露于 BPA 类化合物,而膳食摄入是最主要的暴露途径^[10-12]。

对我国第五次总膳食研究样品的分析结果显示,蔬菜、水果和谷物等植物源性食品是当前我国居民膳食暴露 BPA 类化合物的主要来源^[13]。因此,建立植物源性食品中 BPA 类化合物的精准分析方法对开展该类物质的人群暴露评估具有重要意义。但是现有的有关果蔬和谷物类食品中 BPA 类化合物检测的技术,尤其是样品前处理方法,尚存在一些不足。采用有机溶剂提取结合固相萃取 (Solid phase extraction, SPE) 柱富集净化是食品中 BPA 类化合物前处理的主要手段^[14]。但有研究表明,对于富含色素和纤维的蔬菜样品以及富含淀粉的谷物样品,通常需要反相 SPE 柱 (HLB 或 GCB 柱) 与正相 SPE 柱 (如 NH₂ 柱) 联用才能实现干扰物的有效去除^[15-16],操作复杂、费时费力。另一方面,某些水果 (例如苹果) 中可能含有能够氧化降解 BPA 的酶,在样品前处理过程中会造成 BPA 的回收率下降^[17-19],需要有针对性地对该类食品进行优化;此外,对于 BPA 的结构类似物 BPS 和 BPF,是否存在类似的酶降解现象还未见报道,有待实验考察。除上述食品外,婴幼儿谷类辅助食品作为 1 岁以内敏感人群的重要辅食来源,是另一类广受关注的植物源性食品。该类食品多由塑料容器包装,较易受到 BPA 类化合物的污染。与普通谷物制品不同,该类样品中还添加有一定量的营养强化剂和其他辅料,基质更为复杂,对分析方法的提取和净化能力要求更高,但目前专门针对婴幼儿谷类辅助食品中 BPA 类化合物的分析方法还鲜有报道。

免疫亲和柱是一种基于抗原抗体特异性可逆结合特性的新型 SPE 柱,利用抗原抗体的高选择性反应从复杂的待测样品中提取目标化合物,具有提

取回收率高且基质效应低的优点^[20]。SHAN 等^[21]采用免疫亲和柱结合 LC-MS/MS 技术对鱼、虾、贝、蟹等水产品中的 BPA 类化合物进行测定,在保证高回收率的情况下方法的基质抑制效应仅为 1.6%~9.4%,净化效果明显。基于上述原因,本研究选择苹果、菠菜、大米和婴幼儿米粉作为研究对象,利用免疫亲和柱和 LC-MS/MS 技术构建水果、蔬菜、谷物及婴幼儿谷类辅助食品等植物源性食品中 BPA、BPS 和 BPF 的低基质干扰、高回收率分析方法,为开展食品中 BPA 类化合物的风险监测提供方法学参考。

1 材料与方法

1.1 标准溶液配制

准确称取 BPA、BPF 和 BPS 标准品各适量 (相当于各活性成分约 10 mg,精确到 0.1 mg),分别置于 100 mL 容量瓶中,甲醇溶解并定容。配制成质量浓度为 100 mg/L 的标准储备溶液。

准确移取 100 mg/L 的 BPA、BPF 和 BPS 标准储备溶液各 1 mL,分别置于 100 mL 容量瓶中,甲醇定容,配制成质量浓度为 1 mg/L 的中间浓度标准溶液。准确移取 BPA 和 BPF 的中间浓度标准溶液各 1 mL、BPS 的中间浓度标准溶液 100 μ L,置于 10 mL 容量瓶中,甲醇定容,得到 BPA 和 BPF 浓度为 100 μ g/L、BPS 的浓度为 10 μ g/L 的混合标准工作液。同理,配置 BPA-¹³C₁₂ 和 BPF-¹³C₁₂ 浓度为 100 μ g/L、BPS-¹³C₁₂ 的浓度为 10 μ g/L 的同位素内标混合工作液。置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱避光保存。

1.2 主要仪器与试剂

XevoTM TQ-XS 三重四极杆串联质谱仪 (美国 Waters 公司); AL204-IC 天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); X-30R 台式冷冻离心机 (美国 Beckman 公司); ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μ m, 美国 Waters 公司)。

双酚 A、双酚 S 和双酚 F 复合免疫亲和柱 (各化合物柱容量 \geq 200 ng, 北京维德维康生物技术有限公司); BPA (>99.8%, 国家标准物质中心); BPS 和 BPF (>99.0%, 美国 AccuStandard 公司); 同位素内标 BPA-¹³C₁₂、BPS-¹³C₁₂ 和 BPF-¹³C₁₂ (>99.0%, 美国 Cambridge Isotope laboratories); 实验用水为美国 Millipore-Q 制备的超纯水; 甲醇和乙腈 (色谱纯, Sigma 公司); PBS 缓冲液 (北京索莱宝科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品预处理

对于苹果、菠菜样品,称取 1 g 匀质试样 (精确至 0.01 g),置于 50 mL 聚丙烯离心管中,先加入

0.1 mL 1 mol/L 盐酸,再加入 0.1 mL 混合同位素内标工作液,混匀后静置 30 min。加入 5 mL 乙腈,涡旋混合后超声提取 15 min,4 ℃ 条件下 10 000 r/min 离心 10 min,取上清置于 15 mL 玻璃离心管中。40 ℃ 条件下氮吹至约 2 mL,加入 8 mL PBS 缓冲液混匀备用。

对于婴幼儿米粉样品,称取 1 g 试样(精确至 0.01 g),置于 50 mL 聚丙烯离心管中,加入 0.1 mL 混合同位素内标工作液,混匀后静置 30 min。再加入 10 mL 含 20% 水的甲醇溶液,涡旋振荡 30 s,超声提取 15 min,4 ℃ 条件下 10 000 r/min 离心 10 min,取上清置于 15 mL 玻璃离心管中,40 ℃ 条件下氮吹至约 2 mL,加入 8 mL PBS 缓冲液混匀备用。

1.3.2 免疫亲和柱净化

将 4 ℃ 下保存的免疫亲和柱恢复至室温,让柱中保存液自然流干。将 1.3.1 中备用液全部过柱,

自然流干,再用 10 mL 超纯水淋洗。待水滴完后,用洗耳球挤出残留水分。加入 1 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液于玻璃氮吹瓶中,40 ℃ 下氮吹至近干,加入 400 μL 甲醇并振荡 30 s,再加入 600 μL 水,涡旋混匀,供测定。

1.3.3 分析条件

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);柱温: 40 ℃;流动相: (A) 甲醇和 (B) 水;流速: 0.3 mL/min;流动相梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 60% B; 0.5~5 min, 60% B~0% B; 5~6 min, 0% B; 6~6.1 min, 0% B~60% B; 6.1~9 min, 60% B; 进样量: 10 μL。电离源: ESI(-);毛细管电压: 2.0 kV;离子源温度: 150 ℃;脱溶剂气温度: 450 ℃;脱溶剂气流量: 900 L/h; BPA、BPF 和 BPS 及其内标物的定性定量离子对、碰撞能量信息见表 1。

表 1 目标化合物的质谱参数

Table 1 MS/MS parameters for target compounds

化合物	母离子/(<i>m/z</i>)	定量离子		定性离子	
		离子/(<i>m/z</i>)	碰撞能量/eV	离子/(<i>m/z</i>)	碰撞能量/eV
BPA	227.0	212.0	18	133.0	24
BPA- ¹³ C ₁₂	239.2	224.2	19	139.1	25
BPF	199.1	93.0	20	105.0	20
BPF- ¹³ C ₁₂	211.2	111.1	22	99.1	23
BPS	249.0	108.0	25	156.0	20
BPS- ¹³ C ₁₂	261.1	162.1	22	114.1	26

1.3.4 基质效应评价方法

在 LC-MS/MS 分析中,基质效应(Matrix effect, ME)是样品净化效果的重要评价指标^[22],本研究通过以下公式进行计算:

$$ME = (A_1/A_2 - 1) \times 100\%$$

其中 A_1 为基质匹配样品中待测物离子仪器峰面积; A_2 为溶剂标准样品中待测物离子仪器峰面积。当 $ME > 0$ 时,则表示基质使分析物的响应增强;当 $ME < 0$ 时,表示基质使分析物的响应抑制。

2 结果

2.1 提取液的优化

对于食品中双酚类物质的前处理,常选用乙腈或甲醇作为提取液进行样品提取^[23-24]。本研究首先采用乙腈对苹果、菠菜、大米以及婴幼儿米粉进行提取。结果发现,除菠菜可获得较好提取效果(回收率为 95.85%~109.79%),苹果、大米以及婴幼儿米粉提取效果不佳,而更换提取液为甲醇也未能改善提取效果。由此,我们对苹果、大米以及婴幼儿米粉的提取过程进行进一步优化,以获得最佳提取效率。

2.1.1 苹果样品提取液的优化

采用纯乙腈作为提取溶剂时,苹果样品中三种目标物的加标回收率在 3.41%~72.92% 之间,提取效率不佳。有文献提示^[17-19],某些植物性食品中可能含有能够降解 BPA 的酶,在样品前处理过程中会造成 BPA 的回收率下降。BPS、BPF 与 BPA 的结构非常相似,酶降解可能也是造成这两种化合物回收率偏低的原因。因此,我们尝试在乙腈提取液中添加 0.1 mL 1 mol/L 的盐酸,调整提取液 pH 值至 3,以抑制样品提取液中酶的活性。实验结果显示,在酸化的乙腈提取液中,BPA、BPF 和 BPS 的回收率均得到明显提升(图 1),分别从 3.41%、17.29% 和 61.22% 增加至 90.59%、95.58% 和 93.62%。根据上述结果,本研究最终采用 pH 值为 3 的酸化乙腈溶液作为苹果样品的提取液。

2.1.2 大米粉和婴幼儿米粉提取液的优化

考虑到相对于大米粉样品,婴幼儿米粉样品因另外添加有一定量的营养强化剂和其他辅料,基质更为复杂,对分析方法的提取和净化能力要求更高,故选用婴幼儿米粉样品进行此部分方法的优化。市售婴幼儿米粉大多经过热加工熟化处理,使

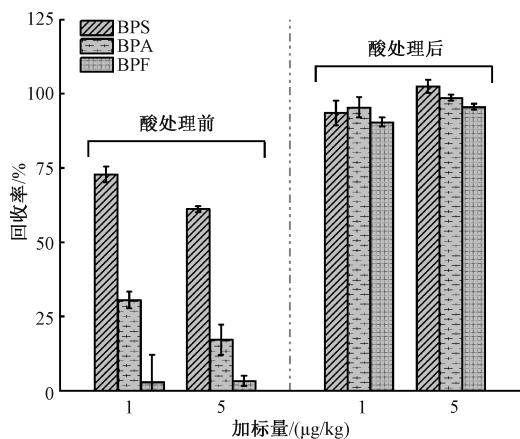


图1 乙腈提取液酸化处理对苹果样品提取效率的影响($n=5$)

Figure 1 Effect of acidification treatment of acetonitrile extract on extraction efficiency of apple samples ($n=5$)

用乙腈或含水的乙腈溶液对其进行提取会造成样品出现不同程度的团聚(图2),从而影响目标物的提取效率。本研究选取含水的甲醇溶液作为提取液,分别考察了不同的甲醇体积比例(60%、70%、80%、90%和100%)以及不同的提取液体积(6、7、8、10和12 mL)对三种目标物回收率的影响。实验结

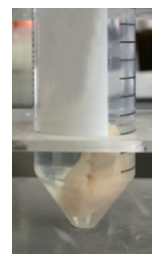


图2 含水的乙腈溶液提取婴幼儿米粉造成的团聚现象
Figure 2 Agglomerations caused by the extraction of infant formula rice flour with aqueous acetonitrile solution

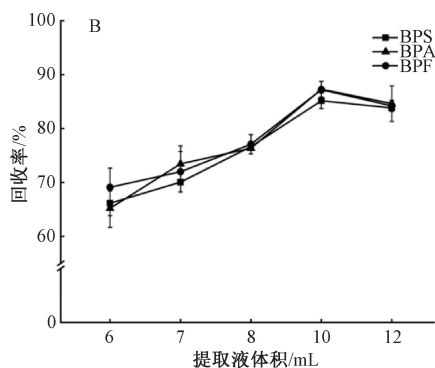
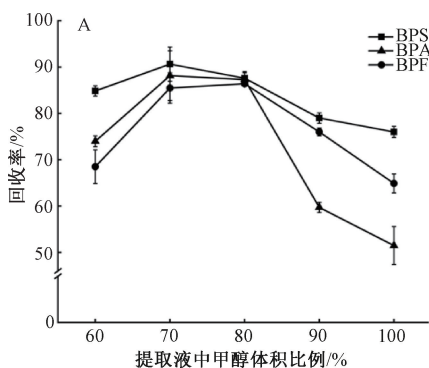


图3 婴幼儿米粉提取液甲醇体积比例(A)和体积(B)的优化($n=5$)

Figure 3 Optimization of infant formula rice flour extraction liquid about volume ratio of methanol (A) and volume(B) ($n=5$)

2.2 净化条件优化

免疫亲和柱是基于抗原抗体特异性结合的方式实现对样品中目标物的富集和净化,当上样液中有有机溶液的比例增加时,会影响抗体对目标物的结合能力,导致回收率下降。本研究考察了免疫亲和柱上样液中不同的甲醇和乙腈比例对三种双酚类化合物的回收率影响。实验结果表明(图4),当上样液中有有机相的体积比例从0%增加至20%时,目标物回收率未受到显著影响,继续增加有机相比例至30%,3种双酚类化合物的回收率均明显降低。为了缩短样品前处理提取液的氮吹浓缩时间,本研究将上样液中的有机溶液比例设定为20%,即将提取液浓缩至2 mL后用8 mL PBS

果显示(图3A),随着提取液中甲醇的比例增加,三种化合物的加标回收率均出现先增加后降低的变化趋势,当提取液中甲醇比例为80%即含水量为20%时回收率和精密度最为理想。故以含20%水的甲醇溶液为基础进一步对提取液体积进行考察。在比较了5种不同体积下的回收率变化后(图3B),最终选择10 mL含20%水的甲醇溶液作为婴幼儿米粉的提取溶液。实验发现,应用此婴幼儿米粉提取方法对大米粉样品进行前处理同样获得了较理想的提取效果,因此,大米粉样品采用与婴幼儿米粉一致的前处理方法。

溶液稀释上样。

免疫亲和柱在上样后通常需要采用水相溶液进行淋洗,以减少样品基质中干扰物非特异性吸附对后续仪器分析的不良影响,提高样品净化效果。本研究选取色素及纤维含量丰富的菠菜样品为代表,分别考察比较了10 mL超纯水、10 mL PBS+10 mL超纯水以及10 mL含20%甲醇的水溶液等不同淋洗液对样品的净化效果及回收率的影响。实验结果显示(图5),三种淋洗液的净化效果相当,基质效应均较低(1.21%~4.26%),体现出免疫亲和柱特异性强、净化效率高的特点。本研究在保证有效净化的基础上,考虑到环保以及操作的便捷性,最终选择10 mL超纯水作为样品淋洗液。

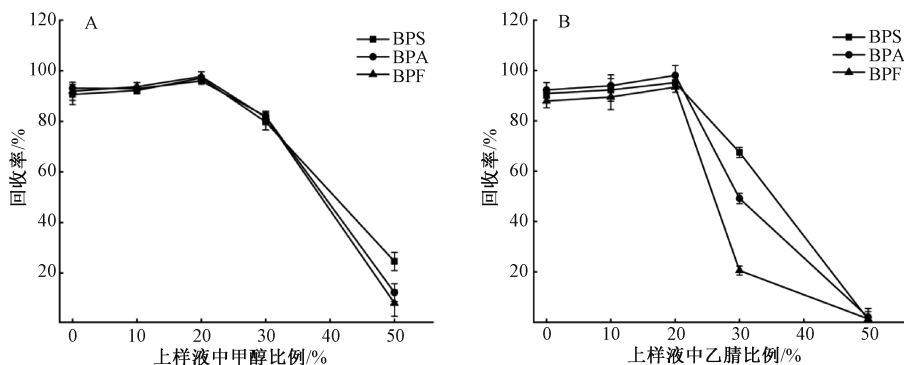


图4 上样液有机相(A:甲醇;B:乙腈)比例对BPS、BPA和BPF回收率的影响($n=5$)

Figure 4 Effect of organic phase (A: methanol; B: Acetonitrile)-water ratio on recovery of BPS, BPA and BPF ($n=5$)

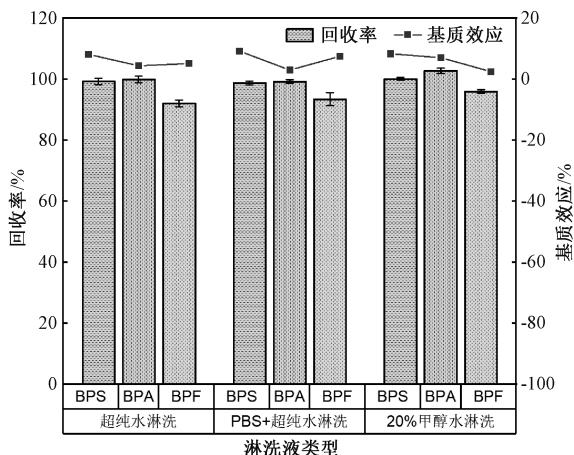


图5 菠菜样品在 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ BPS、BPA和BPF加标量下不同种类淋洗液对回收率及基质效应的影响($n=5$)

Figure 5 Effects of different eluents on recovery and matrix effect in Spinach Samples of BPS, BPA and BPF at $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ plus scalar ($n=5$)

2.3 洗脱条件的优化

免疫亲和柱洗脱液的体积将影响到待测物回收率的高低,体积过少会导致待测物不能完全与抗体解吸附而回收率偏低,而体积过多又会延长后续操作中的氮吹时间。本研究用10 mL PBS稀释的标准溶液进行上样(BPA和BPF浓度均为 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$, BPS浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$),以甲醇为洗脱液,对1、2和3 mL等3个不同的洗脱体积下,目标物的回收率进行了比较,结果显示(图6),当洗脱液为1 mL时,三种目标化合物的回收率均达到95%以上。增加洗脱液用量,回收率变化不明显。因此,本研究的免疫亲和柱洗脱液用量选择为1 mL。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性范围、检出限和定量限

在1.3.3的高效液相色谱串联质谱分析条件下,对BPA、BPF和BPS的系列标准溶液由低到高浓度进行检测。系列标准溶液中BPA和BPF的浓度点为 0.5 、 1 、 2.0 、 5.0 、 8 、 10 、 $20 \mu\text{g}/\text{L}$, BPS的浓度

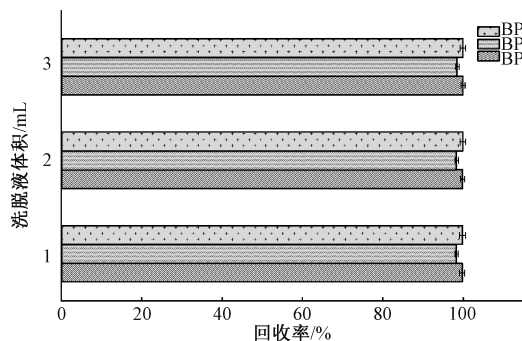


图6 免疫亲和柱洗脱液体积的优化($n=5$)

Figure 6 Optimization of eluting volume ($n=5$)

分别为 0.05 、 0.1 、 0.2 、 0.5 、 0.8 、 1 、 $2 \mu\text{g}/\text{L}$, BPA- $^{13}\text{C}_{12}$ 和BPF- $^{13}\text{C}_{12}$ 浓度为 $5 \mu\text{g}/\text{L}$, BPS- $^{13}\text{C}_{12}$ 浓度为 $0.5 \mu\text{g}/\text{L}$ 。以BPA、BPS和BPF的色谱峰与各对应内标色谱峰的峰面积比值为纵坐标、对应的浓度为横坐标绘图,得到标准曲线回归方程(表2)。结果表明,各化合物在其线性范围内呈现较好的线性关系,决定系数(R^2)均大于 0.999 。以定量离子信噪比(S/N) ≥ 3 计算方法的检出限,三种食品中BPA和BPF的检出限为 $0.15 \mu\text{g}/\text{kg}$, BPS的检出限为 $0.015 \mu\text{g}/\text{kg}$;以 $S/N \geq 10$ 计算方法的定量限, BPA和BPF的定量限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$, BPS的定量限为 $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.4.2 回收率和精密度

取空白苹果、菠菜、大米粉和婴幼儿米粉样品,加入低、中、高3种浓度水平的BPA、BPF和BPS混合标准工作溶液,每个水平做6个平行样品进行加标回收实验。结果显示(表3),3种双酚类化合物的回收率均在 $90\% \sim 111\%$ 之间, RSD在 $1.25\% \sim 11.50\%$ 之间。对比目前报道的食品中双酚类化合物的前处理方法(串联两种萃取柱子)和净化效果,体现出本方法在保证良好的正确度和精密度的基础上,具有操作便捷且高效净化的优势^[15-16, 25]。

2.4.3 实际样品测定

采用本研究构建方法对市售的5份苹果、3份

表2 BPA、BPF和BPS线性范围、线性方程、决定系数、检出限及定量限

Table 2 Linear range, linear equation, correlation coefficient, detection limit and quantitation limit of BPA, BPF and BPS

目标物	线性范围/($\mu\text{g/L}$)	线性方程	R^2	LOD/($\mu\text{g/kg}$)	LOQ/($\mu\text{g/kg}$)
BPA	0.5~20	$y=53\ 929x+3\ 095.3$	0.999 6	0.15	0.5
BPF	0.5~20	$y=34\ 538x+1\ 784.2$	0.999 9	0.15	0.5
BPS	0.05~2	$y=2\ 260\ 239x+30\ 295$	0.999 7	0.015	0.05

表3 BPA、BPF和BPS在不同样品及加标水平下的回收率和精密度

Table 3 Recovery and precision of BPA, BPF and BPS at different samples and standard levels

样品种类	目标物	加标水平 /($\mu\text{g/kg}$)	回收率 /%($n=6$)	RSD /%($n=6$)
苹果	BPA	0.5	94.81	4.80
		1	106.02	6.89
		5	95.72	3.65
	BPF	0.5	97.12	3.76
		1	104.52	3.16
		5	98.77	1.25
菠菜	BPS	0.05	98.25	6.02
		0.1	106.62	8.29
		0.5	102.56	4.44
	BPA	0.5	95.85	7.27
		1	107.37	7.09
		5	101.07	6.46
大米粉	BPF	0.5	95.85	3.96
		1	96.74	1.77
		5	102.40	5.95
	BPS	0.05	103.12	8.14
		0.1	106.26	3.27
		0.5	109.79	2.68
婴幼儿米粉	BPA	0.5	104.4	11.5
		1	104.3	4.5
		5	102.5	3.4
	BPF	0.5	107.9	3.2
		1	109.9	2.4
		5	96.7	3.1
BPS	0.05	99.1	9.4	
	0.1	99.9	3.3	
	0.5	99.1	2.9	
婴幼儿米粉	BPA	0.5	103.42	6.48
		1	111.12	7.11
		5	103.30	6.48
	BPF	0.5	103.31	7.26
		1	98.61	7.16
		5	100.31	10.50
BPS	0.05	109.74	6.84	
	0.1	98.29	7.08	
	0.5	102.52	8.52	

菠菜和4份婴幼儿米粉样品进行BPA、BPF和BPS的检测,图7为实际样品及 $5\ \mu\text{g/kg}$ 标准品BPS、BPF和BPA检出色谱图。结果显示(表4),三类样品中BPA、BPS和BPF的检出率分别为91.6%、83.3%和41.6%,BPA检出浓度在 $<0.5\sim 3.01\ \mu\text{g/kg}$,BPS检出浓度 $0.08\sim 0.52\ \mu\text{g/kg}$,BPF检出浓度 $<0.5\sim 1.80\ \mu\text{g/kg}$ 。从随机抽取的市售样品检测结果来看,BPA工业替代品BPS的检出率已与BPA

相当,提示有关部门应该加大食品尤其是婴幼儿食品中BPS的风险监测,以正确评价长期摄入BPS污染食品对人体健康的危害。

表4 市售苹果、菠菜和婴幼儿米粉样品中BPS、BPF和BPA检出浓度

Table 4 Concentrations of BPS, BPF and BPA were detected in commercially available apples, spinach and infant rice flour samples

样品基质	编号	BPA /($\mu\text{g/kg}$)	BPS /($\mu\text{g/kg}$)	BPF /($\mu\text{g/kg}$)
苹果	1	0.54	ND	0.50
	2	<0.50	0.12	ND
	3	<0.50	0.08	ND
	4	2.59	0.27	ND
	5	ND	0.18	<0.50
菠菜	1	<0.50	0.36	<0.50
	2	1.65	ND	ND
	3	2.39	0.15	ND
婴幼儿米粉	1	3.01	0.16	<0.50
	2	<0.50	0.09	1.80
	3	1.37	0.52	ND
	4	1.17	0.21	ND

注:ND表示检测结果小于检出限

3 结论

本研究采用复合免疫亲和柱以及HPLC-MS/MS,建立了苹果、菠菜、大米粉以及婴幼儿米粉样品中BPA、BPS和BPF的高效净化、富集和分析方法。实验数据表明了基于抗原抗体特异性结合原理的免疫亲和柱净化效果优良,基质效应低,回收率高,具有推广潜力。实验方法线性范围、检出限、定量限、回收率和精密度均能满足苹果、菠菜、大米粉以及婴幼儿米粉中双酚类物质的分析要求,可为食品安全管理及风险评估提供科学依据。

参考文献

- [1] STAPLES C A, DOME P B, KLECKA G M, et al. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A [J]. *Chemosphere*, 1998, 36 (10): 2149-2173.
- [2] VOM S F S, VANDENBERG L N. Update on the health effects of bisphenol A: Overwhelming evidence of harm [J]. *Endocrinology*, 2021, 162 (3): bqaa171.
- [3] MOON S, YU S H, LEE C B, et al. Effects of bisphenol A on cardiovascular disease: An epidemiological study using National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2016 and meta-analysis [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 763: 142941.

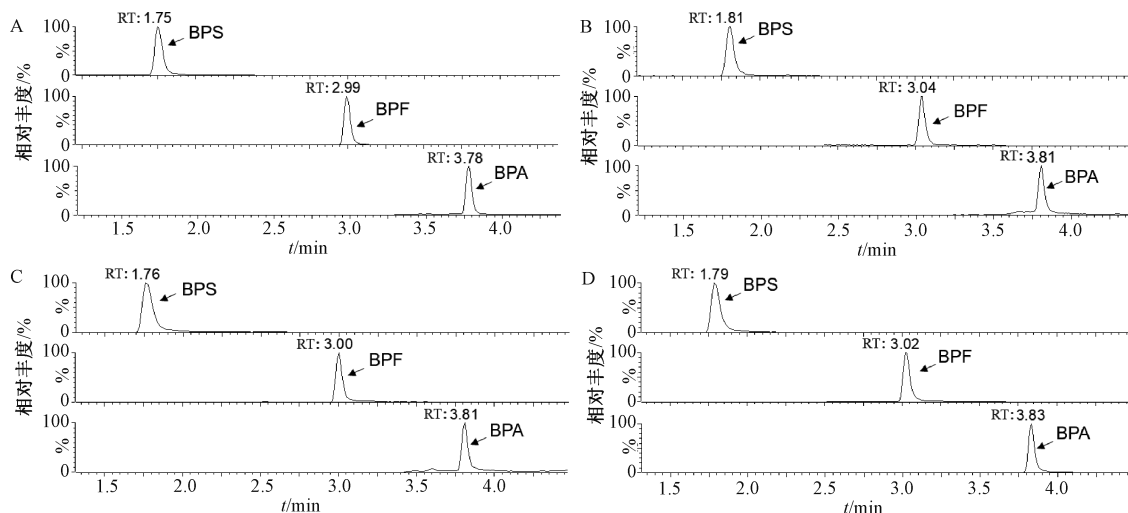


图7 实际样品(A:苹果;B:菠菜;C:婴幼儿米粉)及5 µg/kg 标准品(D)中BPS、BPF和BPA检出色谱图

Figure 7 Chromatograms of BPS, BPF and BPA in the actual sample

- [4] 李慧艳. 双酚 A 人群暴露情况和健康风险研究进展[J]. 中国公共卫生, 2018, 34(10): 1442-1445.
- [5] FILARDI T, PANIMOLLE F, LENZI A, et al. Bisphenol A and Phthalates in Diet: An Emerging Link with Pregnancy Complications[J]. Nutrients, 2020, 12(2): 525.
- [6] GALLART-AYALA H, MOYANO E, GALCERAN M T. Analysis of bisphenols in soft drinks by on-line solid phase extraction fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 683(2): 227-233.
- [7] LI J J, LI L J, XU H C. Health Effects of Bisphenol A and their limits in plastics products abroad [J]. Journal of Environment and Health, 2012, 29(4): 379-382.
- [8] 李红梅, 熊忆茗, 徐海明, 等. 双酚 A 类似物的雄性生殖毒性研究进展[J]. 中国环境科学, 2021, 41(6): 2939-2945.
- [9] ROCHESTER J R, BOLDEN A L. Bisphenol S and F: A systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes. Environmental Health Perspectives, 2015, 123(7): 643-650.
- [10] KANG J H, KONDO F, KATAYAMA Y. Human exposure to bisphenol A[J]. Toxicology, 2006, 226(2-3): 79-89.
- [11] LEHMLER H J, LIU B Y, GADOGBE M, et al. Exposure to bisphenol A, bisphenol F, and bisphenol S in US adults and children: The national health and nutrition examination survey 2013-2014[J]. ACS Omega, 2018, 3(6): 6523-6532.
- [12] KANG J H, KONDO F, KATAYAMA Y. Importance of control of enzymatic degradation for determination of bisphenol A from fruits and vegetables [J]. Analytica Chimica Acta, 2006, 555(1): 114-117.
- [13] YAO K, ZHANG J, YIN J, et al. Bisphenol A and its analogues in Chinese total diets; contaminated levels and risk assessment [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020(1): 1-14.
- [14] 张昊, 凌映茹, 吉文亮, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定全蛋粉中的双酚 A 和双酚 S[J]. 食品工业科技, 2019, 40(17): 270-275.
- [15] LU L B, YANG Y J, ZHANG J, et al. Determination of seven bisphenol analogues in reed and Callitrichaceae by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2014, 953-954: 80-85.
- [16] 余建龙. 七种双酚类化合物雌激素活性评价及其在食品中检测方法的建立和应用[D]. 南昌:南昌大学, 2014.
- [17] ELADAK S, GRISIN T, MOISON D, et al. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound[J]. Fertility and Sterility, 2015, 103(1): 11-21.
- [18] YOSHIDA M, ONO H, MORI Y, et al. Oxygenation of Bisphenol A to Quinones by Polyphenol Oxidase in Vegetables [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(15): 4377-4381.
- [19] XUAN Y J, ENDO Y, FUJIMOTO K. Oxidative degradation of bisphenol a by crude enzyme prepared from potato[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(22): 6575-6578.
- [20] ENYUYA H Z, GILBERT J. Immunoaffinity column clean-up techniques in food analysis: A review [J]. Journal of Chromatography B, 2010, 878(2): 115-132.
- [21] SHAN W C, YAO K, WEN K, et al. Development of low matrix effects method for the analysis of bisphenol A and bisphenol S in aquatic products by immunoaffinity purification [J]. Journal of Chromatography B, 2019, 1109: 19-24.
- [22] 张弛, 任君, 陈达炜, 等. 分散微固相萃取-超高效液相色谱-高分辨质谱法测定火锅底料中罂粟壳生物碱[J]. 中国食品卫生杂志, 2021, 33(1): 29-35.
- [23] 刘红丽, 张二鹏, 卢素格, 等. 同位素稀释-超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法同时测定蔬菜水果中双酚 A 和双酚 S[J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(8): 919-921.
- [24] 王彬, 牛宇敏, 张晶, 等. 丹磺酰氨基衍生-超高效液相色谱串联质谱法测定母乳中 8 种双酚类物质[J]. 卫生研究, 2017, 46(6): 965-970.
- [25] NIU Y M, ZHANG J, WU Y N, et al. Analysis of bisphenol A and alkylphenols in cereals by automated on-line solid-phase extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(24): 6116-6122.