

UPLC-MS/MS 法测定聚亚苯基砜奶瓶 4,4'-联苯二酚迁移量

白泽清^{1,2,3}

(1.厦门市产品质量监督检验院, 福建 厦门 361004; 2.国家物流包装产品质量检验检测中心(福建), 福建 厦门 361004; 3.厦门市食品包装材料安全评价及检测重点实验室, 福建 厦门 361004)

摘要: **目的** 提出聚亚苯基砜(PPSU)奶瓶4,4'-联苯二酚迁移量的超高效液相色谱-串联质谱分析方法(UPLC-MS/MS), 为婴幼儿食品包装质量安全测试方法提供依据。**方法** 在70 °C、2 h条件下, 采用体积分数50%的乙醇溶液(食品模拟物)对样品进行迁移实验, 采用C18色谱柱分离, 以超纯水和甲醇为流动相梯度洗脱, 通过电喷雾电离源(ESI)负离子模式和多反应监测(MRM)进行采集、扫描, 并进行定性和定量检测, 采用外标法进行定量分析。**结果** 在优化条件下, 目标物在5~200 μg/L内线性关系良好, 相关系数(R^2)大于0.999 9, 检出限和定量下限分别为1.5 μg/L和5 μg/L。该方法的基质效应值为95.8%~114%, 加标回收率为95.2%~105%, 相对标准偏差(RSD)为1.0%~1.7% ($n=6$)。**结论** 该方法具有快速、准确且灵敏度高等特点, 适用于PPSU奶瓶4,4'-联苯二酚迁移量的测定。

关键词: 聚亚苯基砜奶瓶; 4,4'-联苯二酚; 迁移量; 超高效液相色谱-串联质谱

中图分类号: TS206.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2022)19-0167-06

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2022.19.019

Determination of 4,4'-Dihydroxybiphenyl Migrated from Polyphenylene Sulfone Feeding-bottles by UPLC-MS/MS

BAI Ze-qing^{1,2,3}

(1. Xiamen Products Quality Supervision & Inspection Institute, Fujian Xiamen 361004, China; 2. National Testing Center for Logistics Packing Products (Fujian), Fujian Xiamen 361004, China; 3. Xiamen Key Laboratory for Safety Evaluation and Testing of Food Packaging Material, Fujian Xiamen 361004, China)

ABSTRACT: The work aims to develop an ultra-performance liquid chromatograph-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for determination of 4,4'-dihydroxybiphenyl migrated from polyphenylene sulfone feeding-bottles (PPSU) to provide test method basis of quality and safety of infant food packaging. The 50% (V/V) ethanol/water solution was chosen as food simulant to conduct the migration tests under testing conditions of (70 °C, 2 h), and the analytes were separated on a C18 chromatographic column by gradient elution with a mobile phase consisting of deionized water and methyl alcohol. The qualitative and quantitative testing of 4,4'-dihydroxybiphenyl were carried out by multiple-reaction monitoring (MRM) collecting and scanning with electrospray ionization (ESI) source operating in the negative ionization mode, and external standard method was used for quantitative detection. Under the optimized conditions, there was a good linear relationship (with correlation coefficient $R^2 > 0.999 9$) for the analyte in the concen-

收稿日期: 2021-11-25

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划(2019MK081)

作者简介: 白泽清(1987—), 男, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品包装安全检验检测。

tration range of 5-200 $\mu\text{g/L}$. The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) were 1.5 $\mu\text{g/L}$ and 5 $\mu\text{g/L}$, respectively. The matrix effects of the method were in the range of 95.8%-114%, and the recovery range was 95.2% to 105%, and the relative standard deviation (RSD) was 1.0%-1.7% ($n=6$). This method is suitable for rapid determination of migration quantity of 4,4'-dihydroxybiphenyl in PPSU feeding-bottles, with the advantages of good accuracy and high sensitivity.

KEY WORDS: polyphenylene sulfone feeding-bottles; 4,4'-dihydroxybiphenyl; migration quantity; UPLC-MS/MS

塑料奶瓶作为婴幼儿食品接触材料,其安全性备受社会关注^[1-3]。在“双酚 A 奶瓶”事件发生后,聚碳酸酯(PC)奶瓶很快就退出了我国市场,聚亚苯基砜(PPSU)奶瓶逐步成为消费者的首选^[4-6]。在 PPSU 塑料制品的合成过程中需要采用一种重要的单体——4,4'-联苯二酚,它是一种类激素物质,具有一定的雌激素活性和抗雄激素活性^[7-10]。鉴于残留单体向食品迁移的问题在过去几十年中时有发生^[11-12],因此对于食品接触 PPSU 塑料制品,欧盟^[13]、韩国^[14]、中国^[15-16]等都针对其 4,4'-联苯二酚的迁移限量进行了规定。GB 4806.6—2016《食品安全国家标准 食品接触用塑料树脂》规定了 4,4'-联苯二酚向食品模拟物的特定迁移限量为 6 mg/kg。在该限量规定实施后的几年内,4,4'-联苯二酚一直存在检测方法缺失的情况。2020 年,广东省团体标准(T/GDBZ 002—2020)《食品接触材料及制品 4,4'-联苯二酚迁移量的测定》正式发布实施,采用液相色谱-紫外检测法解决了 4,4'-联苯二酚迁移量检测无标准可依的问题,方法的定量限为 0.2 mg/L^[17]。中国专利文献公开了一种 PPSU 奶瓶中 4,4'-联苯二酚和 4,4'-二氯二苯砜迁移量的检测方法,检测方法采用液相色谱-紫外检测法^[18]。

文中实验采用超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)检测 4,4'-联苯二酚的迁移量,以克服液相色谱-紫外检测法可能存在的假阳性问题,同时将目标物的定量限值降低至 5 $\mu\text{g/L}$,拟为该有害物质的低浓度检测提供技术方法。

1 实验

1.1 仪器和试剂

主要仪器:超高效液相色谱-串联质谱仪,SCIEX Triple Quadtm 6500⁺,美国 SCIEX 公司;Secura 225D-1CN 电子天平,德国赛多利斯公司;DKN612C 恒温箱,日本 Yamato 公司;Milli-Q 超纯水仪,美国密理博公司。

主要试剂:0.22 μm 微孔水膜,上海安谱实验科技股份有限公司;4,4'-联苯二酚标准品,纯度为 99.9%,坛墨质检标准物质中心;甲醇、甲酸、乙醇、乙酸铵,HPLC 级,厦门市绿茵试剂玻仪有限公司;氨水(体积分数 25%),分析纯,厦门市绿茵试剂玻仪有限公

司;实验用水均为超纯水。

1.2 标准溶液的配制

1) 标准储备液(100 mg/L)。准确称取 4,4'-联苯二酚标准品 10 mg,用甲醇溶解、定容,并置于 100 mL 容量瓶中摇匀,制成质量浓度为 100 mg/L 的标准储备液。在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 下保存,有效期为 3 个月。

2) 标准中间溶液。准确移取 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2 mL 的标准储备液于 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容、摇匀,配制成质量浓度分别为 0.5、1、2、5、10、20 mg/L 的标准中间溶液。

3) 标准工作溶液。分别准确移取 0.10 mL 标准中间溶液于 10 mL 容量瓶中,用乙醇(体积分数为 50%,下同)定容、摇匀,配制成质量浓度分别为 5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作溶液。

1.3 迁移实验

根据 GB 31604.1—2015 和 GB 5009.156—2016 的规定,迁移实验条件按待测样品的预期用途和可预见的最严苛接触条件进行设定。奶瓶预期用途为盛装乳及乳饮料,选取体积分数为 50% 的乙醇溶液作为食品模拟物。冲泡奶粉是奶瓶可预见的最严苛的使用情况,适用于 GB 31604.1—2015 规定的迁移条件——“温度 ≤ 70 $^{\circ}\text{C}$ 、时间 ≤ 2 h,或温度 ≤ 100 $^{\circ}\text{C}$ 、时间 ≤ 15 min 条件下的热灌装及巴氏消毒后,不在室温或低于室温的条件下长期贮存”,这里的迁移实验条件选取温度为 70 $^{\circ}\text{C}$ 、时间为 2 h。

在进行迁移实验前,先将食品模拟物置于恒温箱中预热至 (70 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$,取出后立即倒入空奶瓶中,直至液面与最大标称容量刻度齐平。然后迅速用保鲜膜封口,将装有食品模拟液的奶瓶置于恒温箱中进行迁移实验,迁移温度为 70 $^{\circ}\text{C}$,时间为 2 h。奶瓶为重复使用产品,每个试样需进行 3 次迁移实验,每次均采用新的食品模拟物,取第 3 次迁移试液 10 mL,用 0.22 μm 微孔水膜过滤,得到待测迁移液,同时做平行实验和空白实验。

1.4 色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC[®]BEH C18 (1.7 μm , 2.1 mm \times 100 mm),柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$,流动相 A 为超纯水,流动相 B 为甲醇,进行梯度洗脱。洗脱程序见表 1,流速为 0.2 mL/min;进样体积为 1 μL 。

表 1 超高效液相色谱梯度洗脱程序
Tab.1 Gradient elution program of UPLC

保留时间/min	体积分数/%	
	流动相 A	流动相 B
0	80	20
2	10	90
5.1	80	20
6	80	20

1.5 质谱条件

质谱条件:电喷雾离子源(ESI)、多反应监测(MRM)数据采集模式、负离子扫描方式。离子源温度为 350 °C,喷雾电压为-4 500 V,去簇电压为-115 eV,气帘气压力为 0.207 MPa,雾化气压力为 0.379 MPa。

2 结果讨论

2.1 质谱参数优化

待测物 4,4'-联苯二酚的分子式为 $C_{12}H_{10}O_2$, 相对分子质量为 186。考虑到待测物中含有 2 个酚羟基,容易失去质子,形成稳定的共轭体系,因此采用负离子模式进行电离。采用流动注射器将质量浓度为 50 $\mu\text{g/L}$ 的目标物溶液直接进行质谱分析,通过全扫描方式确定其母离子,再对母离子进行二级质谱扫描,得到碎片离子,通过条件优化得到目标物的质谱参数(见表 2)和二级质谱图(图 1)。最后,根据碎片离子相对丰度的高低,选择质荷比(m/z) 184.1 为定量离子,156.1 和 120.6 为定性离子。

表 2 4,4'-联苯二酚质谱参数
Tab.2 Parameters of mass spectrum of 4,4'-dihydroxybiphenyl

母离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	碰撞能/eV
184.9	184.1	-30
184.9	156.1	-37
184.9	120.6	-34

2.2 离子源温度优化

离子源温度对电喷雾质谱响应应具有较大的影响,合适的离子源温度可以使待测物更容易去溶剂化,得到更高的离子化率,从而提高检测方法的灵敏度。实验对离子源温度进行了优化,分别测试了 10 $\mu\text{g/L}$ 4,4'-联苯二酚标准溶液在离子源温度为 250、350、450、550、650 °C 下的质谱信号响应情况,得到图 2 所示的峰面积信息。通过比较分析可知,离子源温度为 350 °C 时质谱的响应值最高,因此选用 350 °C 作为最优离子源温度。

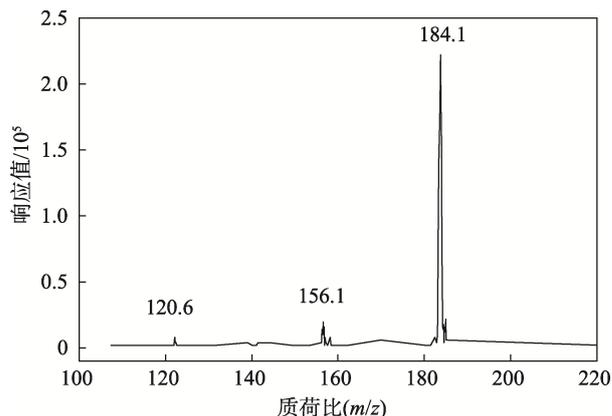


图 1 4,4'-联苯二酚二级质谱
Fig.1 Secondary mass spectrum of 4,4'-dihydroxybiphenyl

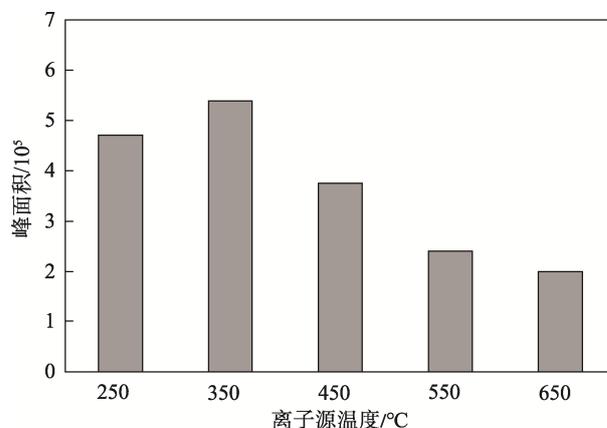


图 2 不同离子源温度的峰面积对比
Fig.2 Comparison of peak areas at different ion source temperature

2.3 流动相优化

在流动相中加入适量的甲酸、乙酸铵或氨水有助于提高电喷雾质谱的响应信号,因此需要对流动相进行优化,以选取最优流动相。选用 LC-MS/MS 法常用的甲酸(体积分数 0.1%)、纯水、乙酸铵(5 mmol/L)和氨水(体积分数 0.01%)作为流动相,对同一待测物的标准溶液进行检测分析,得到总离子流色谱图(图 3a)和峰面积信息(图 3b)。由图 3 的数据可知,使用纯水作为流动相时的质谱信号相对最强,其次是氨水(体积分数 0.01%)。

2.4 方法的线性范围、检出限及定量下限

在相对最优的色谱和质谱条件下对 4,4'-联苯二酚标准工作溶液进行测定,以 4,4'-联苯二酚的质量浓度(x , $\mu\text{g/L}$)为横坐标,色谱峰面积(y)为纵坐标,绘制标准溶液回归曲线。4,4'-联苯二酚标准溶液工作曲线在 5~200 $\mu\text{g/L}$ 内线性关系良好,线性方程: $y=8.99 \times 10^4 x + 4.07 \times 10^4$, 线性相关系数 $R^2 > 0.9999$ 。

采用加标实验确定方法的灵敏度,分别以 3 倍和

10 倍信噪比对应的加标水平为检出限和定量下限。实验结果表明,4,4'-联苯二酚的检出限和定量下限分别为 1.5 μg/L 和 5 μg/L。

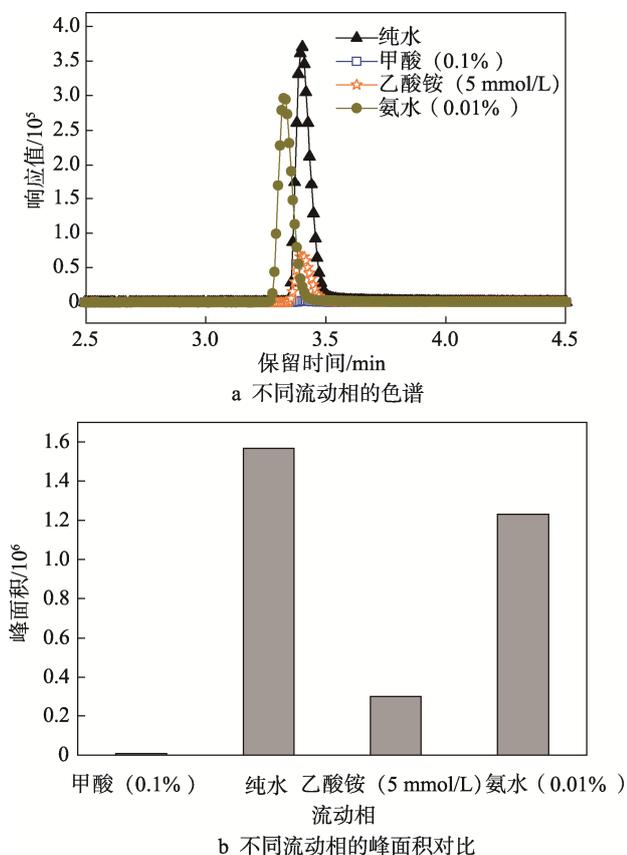


图3 流动相影响图

Fig.3 Diagram for effects of mobile phase

2.5 加标回收率与相对标准偏差

为了验证实验方法的准确度和精密度,在乙醇(体积分数 50%)溶液中进行加标回收实验,加标水平分别为 5、10、50 μg/L,每个加标水平分别做 6 次平行实验,测试浓度取平均值,进行加标回收率和相对标准偏差(RSD)的计算,结果见表 3。表 3 的数据表明,实验方法的加标回收率为 95.2%~105%,相对标准偏差为 1.0%~1.7%,具有良好的准确度和精密度,满足检测的需要。

表 3 4,4'-联苯二酚加标回收率及相对标准偏差 (n=6)
Tab.3 Recoveries and RSDs of 4,4'-dihydroxybiphenyl (n=6)

加标浓度/ (μg·kg ⁻¹)	平均回收浓度/ (μg·kg ⁻¹)	加标回 收率/%	相对标 准偏差/ %
5	4.76	95.2	1.2
10	10.4	104	1.7
50	52.6	105	1.0

2.6 基质效应

基质效应指在样品检测过程中,待测物以外其他物质的存在直接或者间接影响待测物响应的现象。在此次实验中,影响 4,4'-联苯二酚迁移量测定的基质因素为食品模拟液,考虑到奶瓶除了与乳饮料接触外,还可能接触酸性果汁、水及其他冲泡溶液等,因此有必要对各类食品模拟物的基质效应进行比较分析。按照 GB 31604.1—2015 的规定,选用乙酸(体积分数 4%)溶液模拟酸性食品;选用纯水模拟饮用水;选用乙醇(体积分数 10%)模拟非酸性饮料及类似物。分别用这 3 种食品模拟物作为溶剂配制 10 μg/L 的 4,4'-联苯二酚溶液,在上述色谱和质谱条件下进行测试,将获得的总离子流色谱图与乙醇(体积分数 50%)作为溶剂时叠加,见图 4a。从图 4a 可以看到,不同基质对待测物的色谱保留时间的影响较小,但峰面积呈现出一定的差异。进一步比较了每种模拟物作为溶剂时待测物的响应信号,将 5 次平行测试的峰面积取平均值,结果见图 4b。从图 4b 可知,酸性溶液对待测物在质谱中的影响起到了一定的增强作用。以乙醇(体积分数 50%)为参考基准,得到其他各种食品模拟液的基质效应值在 95.8%~114% 内。在基质效应评价分析中,这一数值在 85%~115% 内,可认为基质效应不明显^[19]。

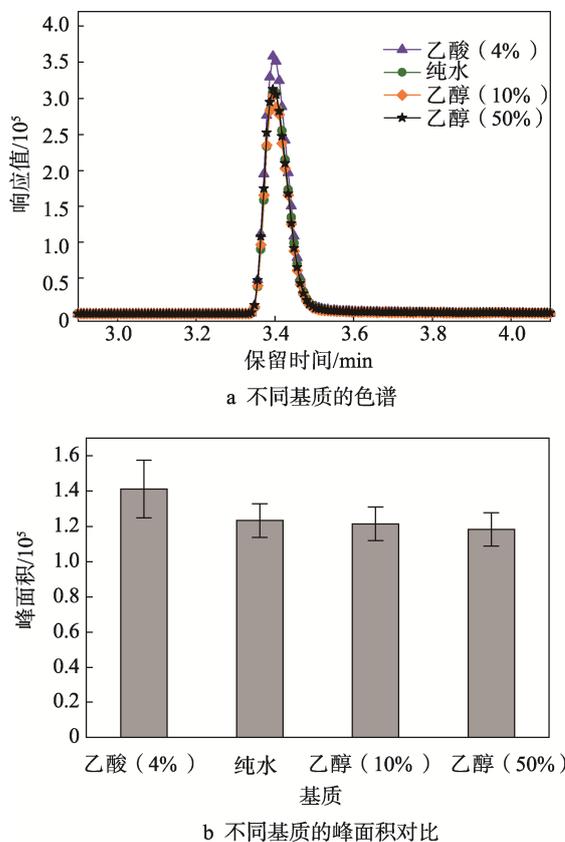


图4 基质影响

Fig.4 Diagram for effects of substrate

2.7 实际样品测试

对市售 3 种品牌的 PPSU 奶瓶进行了测试, 并按照上述条件进行了迁移实验, 每种品牌样品平行测定 2 个, 同时做空白实验。结果表明, 3 种品牌在使用体积分数为 50% 的乙醇作为食品模拟物时, 均未检出 4,4'-联苯二酚。

3 结语

提出了聚亚苯基砜 (PPSU) 奶瓶中 4,4'-联苯二酚的超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 的测定方法。实验结果表明, 4,4'-联苯二酚在 5~200 $\mu\text{g/L}$ 内的线性关系良好, 检出限为 1.5 $\mu\text{g/L}$, 加标收率为 95.2%~105%, 相对标准偏差小于 2%。该方法具有定性准确、灵敏度高、精密度好等优点, 有望在食品接触材料有害物质风险监测工作中推广应用。

参考文献:

- [1] 施均, 罗婵, 刘峻. 常见塑料奶瓶瓶身材质和安全标准分析[J]. 橡塑技术与装备, 2015, 41(16): 34-35.
SHI Jun, LUO Chan, LIU Jun. Material and Safety Standards Analysis of Common Plastic Baby Bottles[J]. China Rubber/Plastics Technology and Equipment, 2015, 41(16): 34-35.
- [2] 谢文斌, 戴航, 贾芳, 等. 聚亚苯基砜树脂奶瓶质量研究与初步评价[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(S1): 14-18.
XIE Wen-jian, DAI Hang, JIA Fang, et al. Initial Evaluation and Study on Quality of PPSU Feeding-Bottle[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2015, 27(S1): 14-18.
- [3] ECKARDT M, GREB A, SIMAT T J. Polyphenylsulfone (PPSU) for Baby Bottles: A Comprehensive Assessment on Polymer-Related Non-Intentionally Added Substances (NIAS)[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2018, 35(7): 1421-1437.
- [4] 李君君, 李力军, 徐惠诚, 等. 双酚 A 的健康影响以及各国对其在塑料制品中的限量要求[J]. 环境与健康杂志, 2012, 29(4): 379-382.
LI Jun-jun, LI Li-jun, XU Hui-cheng, et al. Health Effects of Bisphenol a and Their Limits in Plastics Products Abroad[J]. Journal of Environment and Health, 2012, 29(4): 379-382.
- [5] 陈沙, 朱作为, 李晴, 等. 重复使用的 PPSU 材料的婴幼儿奶瓶中邻苯二甲酸酯类迁移规律分析[J]. 现代食品, 2020(10): 148-152.
CHEN Sha, ZHU Zuo-wei, LI Qing, et al. Analysis of the Migration of Phthalates in Infant Feeding Bottles Made of Recycled PPSU Material[J]. Modern Food, 2020(10): 148-152.
- [6] 陈骁, 赵建青, 袁彦超, 等. 砜聚合物特种工程塑料的合成、性能与应用[J]. 广东化工, 2013, 40(18): 66-67.
CHEN Xiao, ZHAO Jian-qing, YUAN Yan-chao, et al. Synthesis, Properties and Applications of Sulfone Polymers[J]. Guangdong Chemical Industry, 2013, 40(18): 66-67.
- [7] NISHIHARA T, NISHIKAWA J I, KANAYAMA T, et al. Estrogenic Activities of 517 Chemicals by Yeast Two-Hybrid Assay[J]. Journal of Health Science, 2000, 46(4): 282-298.
- [8] OLSEN C M, MEUSSEN-ELHOLM E T M, SAMUELSEN M, et al. Effects of the Environmental Oestrogens Bisphenol A, Tetrachlorobisphenol A, Tetrabromobisphenol A, 4-Hydroxybiphenyl and 4,4'-Dihydroxybiphenyl on Oestrogen Receptor Binding, Cell Proliferation and Regulation of Oestrogen Sensitive Proteins in the Human Breast Cancer Cell Line MCF-7[J]. Pharmacology & Toxicology, 2003, 92(4): 180-188.
- [9] DELGADO-BLANCA I, LLORENT-MARTÍNEZ E J, RUIZ-MEDINA A, et al. Automated On-Line Liquid-Liquid Extraction in a Multisyringe Flow Injection Analysis Manifold for Migration Studies in Food-Contact Materials: Analysis of 4,4'-Dihydroxybiphenyl[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2020, 37(1): 174-182.
- [10] GROH K J, BACKHAUS T, CARNEY-ALMROTH B, et al. Overview of Known Plastic Packaging-Associated Chemicals and Their Hazards[J]. Science of the Total Environment, 2019, 651: 3253-3268.
- [11] BANG D Y, KYUNG M, KIM M J, et al. Human Risk Assessment of Endocrine-Disrupting Chemicals Derived from Plastic Food Containers[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2012, 11(5): 453-470.
- [12] KUMAR P. Role of Plastics on Human Health[J]. The Indian Journal of Pediatrics, 2018, 85(5): 384-389.
- [13] CEN/TS13130-18-2005, Determination of 1,2-Dihydroxybenzene, 1,3-Dihydroxybenzene, 1,4-Dihydroxybenzene, 4,4'-Dihydroxybenzophenone and 4,4'-Dihydroxybiphenyl in Food Simulants[S].
- [14] 李宁, 王丹, 张小明, 等. HPLC 测定塑料食品接触材料中 4,4'-联苯二酚和 4,4'-二氯二苯砜迁移量[J]. 现代食品, 2020(17): 174-178.
LI Ning, WANG Dan, ZHANG Xiao-ming, et al. Determination of 4,4'-Bisphenol and 4,4'-Dichlorodi-

- phenyl Sulfone in Plastic Food Contact Materials by HPLC[J]. *Modern Food*, 2020(17): 174-178.
- [15] GB 4806.6—2016, 食品安全国家标准 食品接触用塑料树脂[S].
GB 4806.6-2016, National Food Safety Standard- Plastic Resin Used in Food-Contact[S].
- [16] 赵镭, 李文慧, 李洁君, 等. HPLC法测定4,4'-联苯二酚和4,4'-二氯二苯砜迁移量[J]. *食品工业*, 2021, 42(4): 471-474.
ZHAO Lei, LI Wen-hui, LI Jie-jun, et al. Determination of Migration of 4,4'- Biphenyldiphenol and 4,4'- Dichlorodiphenyl Sulfone by HPLC[J]. *The Food Industry*, 2021, 42(4): 471-474.
- [17] T/GDBZ 002—2020, 食品接触材料及制品 4,4'-联苯二酚迁移量的测定[S].
T/GDBZ 002-2020, Food Contact Material and Products Determination of Migration of 4,4'-dihydroxybiphenyl[S].
- [18] 王丹, 李宁, 张驰, 等. 一种PPSU奶瓶中4,4'-联苯二酚和4,4'-二氯二苯砜迁移量的检测方法: 中国, 111077255A[P]. 2020-04-28.
WANG Dan, LI Ning, ZHANG Chi, et al. Method for Detecting Migration Amounts of 4,4'-Biphenol and 4,4'-Dichlorodiphenyl Sulfone in PPSU Feeding Bottle: China, 111077255A[P]. 2020-04-28.
- [19] MATUSZEWSKI B K, CONSTANZER M L, CHAVEZ-ENG C M. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC-MS/MS[J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75(13): 3019-3030.

责任编辑: 彭颀